



KREATINKINÁZA MB/ (CK-MB)

Určené použití

CK-MB test i-STAT je diagnostický test *in vitro* pro kvantitativní měření hmotnosti kreatinkinázy MB v plné krvi nebo ve vzorcích plazmy. Měření CK-MB je možno použít jako pomůcku ke stanovení diagnózy a léčení infarktu myokardu (MI).

Vysvětlení metody

Testovací kazeta i-STAT CK-MB používá metodu enzymové imunoanalýzy (ELISA) na dvou místech. Protilátky specifické pro epitop, který je jedinečný pro podjednotku CK-MB, které se proto neváže na CK-MM nebo CK-BB, jsou umístěny na elektrochemickém snímači vyrobeném na křemíkovém čipu. Na jiném místě na křemíkovém čipu senzoru je také uložena protilátka / konjugát enzymu alkalická fosfatázy specifický pro epitop na podjednotce B kreatinkinázy. Specifita konjugované protilátky vůči podjednotce B umožňuje, aby tento konjugát rozpoznával CK-MB a CK-BB, ale ne CK-MM. Plná krev nebo vzorek plazmy se uvede do kontaktu se snímači, což umožní enzymatickému konjugátu rozpustit se ve vzorku. CK-MB ve vzorku se označí alkalickou fosfatázou a bude zachyceno na povrchu elektrochemického snímače během inkubační doby přibližně tři minuty. Vzorek a také přebytek enzymového konjugátu se vymyje ze snímačů. V promývací tekutině je substrát pro enzym alkalické fosfatázy. Enzym vázaný na „sendvič“ protilátka / antigen / protilátka štěpí substrát a uvolňuje elektrochemicky detekovatelný produkt. Elektrochemický (amperometrický) snímač měří tento enzymový produkt, který je úměrný koncentraci CK-MB ve vzorku.

Obsah

Každá kazeta CK-MB i-STAT poskytuje vstup vzorku, snímače k detekci CK-MB, dle popisu výše, a všechna nezbytná činidla potřebná k provedení testu. Kazeta obsahuje pufr a konzervanty. Seznam reaktivních složek je uveden níže:

Reaktivní složka	Biologický zdroj	Minimální množství
Protilátka/ konjugát alkalické fosfatázy	Myší IgG: Hovězí střevo	0,013 µg
IgG	Kozí IgG : Myší IgG	4 µg
Aminofenylfosfát sodný	Nevztahuje se	0,9 mg
Heparin	Vepřové střevo	0,45 IU

Metrologická sledovatelnost

Systémový test I-STAT na kreatinkinázu MB (CK-MB) měří koncentraci kreatinkinázy MB v plazmě nebo plazmatickou frakci venózní plné krve (rozměr ng / mL) pro diagnostické použití *in vitro*. Hodnoty kreatinkinázy MB přiřazené kontrolním prvkům systému i-STAT jsou sledovatelné kalibrátorem American Association of Clinical Chemists (AACC rekombinantní lidský CK-MB od společnosti Seradyn Inc.) pro standardizaci hmotnostních testů kreatinkinázy. Ovládací prvky systému i-STAT a materiály pro ověřování kalibrace jsou validovány pro použití pouze se systémem i-STAT a přiřazené hodnoty nemusí být zaměnitelné s jinými metodami. Další informace týkající se metrologické sledovatelnosti jsou k dispozici od společnosti Abbott Point of Care Inc.

Měřitelný rozsah

Test i-STAT CK-MB bude hlásit 0,0 až 150,0 ng/mL ($\mu\text{g/L}$). Vzorky nad měřitelný rozsah budou na obrazovce displeje analyzátoru ukazovat „>150,0 ng/mL“.

Referenční rozmezí

Vzorky plné krve a plazmy od 161 zdánlivě zdravých dárců byly duplicitně analyzovány za použití tří různých šarží kazet i-STAT CK-MB. Rozsah výsledků 0 až 95 % sahal od 0,0 ng/mL ($\mu\text{g/L}$) do 3,5 ng/mL ($\mu\text{g/L}$).

Poznámka: Každé zařízení by si mělo stanovit své vlastní referenční rozmezí pomocí testu i-STAT CK-MB.

Klinický význam

O hmotnosti CK-MB bylo stanoveno, že je užitečná pro diagnostiku infarktu myokardu, opakovaného infarktu a ke stanovení velikosti infarktu.

Pro optimální diagnostickou užitečnost by měl být srdeční marker specifický pro srdeční tkáň, měl by se rychle uvolňovat do krevního řečiště s přímým poměrným vztahem mezi rozsahem poškození myokardu a měřenou hladinou markeru a měl by zůstat v krvi po dostatečně dlouhou dobu, aby mohl poskytnout pohodlné diagnostické časové okno.¹

Kreatinkináza (CK) je dimerní enzym, který se nachází především v mozkové a svalové tkáni. Existují tři izoformy kreatinkinázy: BB, MM a MB. BB je nachází převážně v mozku. Kosterní svalstvo primárně obsahuje izoformu MM se stopami MB (odhady 1–4 % aktivity CK). Srdeční svaly také obsahují primárně izoformu MM, ale vyšší množství MB, obvykle kolem 20 % aktivity CK.² Sérum od zdravých jedinců obvykle obsahuje izoformu MM a malé množství izoformy MB. CK-MB může být do krevního řečiště uvolňována řadou akcí, včetně poranění kosterních svalů a poškození myokardu.

Ke zvýšení CK-MB v krevním řečišti dochází mezi 4–6 hodinami po infarktu myokardu (MI). Koncentrace vrcholí přibližně po 24 hodinách a po 36 až 72 hodinách se vrací k základní hodnotě. Vzhledem k tomu, že hladina CK-MB není pro srdce specifická, výsledky jediného testu nesvědčí o infarktu myokardu (MI). Obvykle je MI diagnostikován na základě vzorce analýz CK-MB prováděných ve 3hodinových intervalech po dobu 6 až 9 hodin nebo v 6 až 8hodinových intervalech po dobu 24 hodin.

Ačkoli troponiny specifické pro srdce, troponin I (cTnI) a troponin T (cTnT) jsou nyní považovány za biochemické markery volby při hodnocení akutních koronárních syndromů (ACS) včetně infarktu myokardu s elevací ST, infarktu myokardu bez elevace ST a nestabilní anginy pectoris, CK-MB lze také použít jako sekundární marker pro diagnostiku infarktu myokardu a měření stupně nekrózy myokardu. Vzhledem k tomu, že v krvi zdravých osob lze detekovat nízké hladiny CK-MB, může jakákoli hodnota CK-MB nad 95. percentil naznačovat určitý stupeň nekrózy myokardu.¹ Každá instituce by si měla stanovit vlastní referenční rozsah pro svou populaci pacientů a toto rozmezí by mělo být použito ke stanovení vhodného limitu indikujícího akutní infarkt myokardu (AMI).

Dokument o shodě Evropské kardiologické společnosti / American College of Cardiology uvádí, že v klinickém prostředí opakovaného infarktu může být pro monitorování MI užitečnější CK-MB více než srdeční troponin I (cTnI) nebo srdeční troponin T (cTnT), protože CK-MB zůstává zvýšena pouze po 2 až 4 dny po MI, na rozdíl od až 5 dnů v případě použití cTnI nebo 10 dnů u cTnT.^{3,4,5,6,7} Klinické studie také prokázaly úzký vztah mezi rozsahem poškození myokardu (velikost infarktu) po MI a zvýšenými hmotnostními koncentracemi CK-MB séra.⁸ Podobně byly pozorovány významné korelace mezi odhadovanou velikostí CK-MB infarktu a echokardiografií levé komory.⁸

Další stavy, včetně poškození kosterního svalstva, jako jsou nehody, tupá poranění, těžké popáleniny a extrémní cvičení, nebo myopatických poruch, jako je myokarditida, které nejsou sekundární při ischemické chorobě koronárních tepen, mohou také vést k poškození kosterních svalů nebo myokardu a mohou způsobit zvýšení koncentrace CK-MB v krvi. Tyto stavy by měly být brány při interpretaci výsledků v úvahu a hladina CK-MB by měla být použita ve spojení s klinickými příznaky, symptomy, anamnézou a změnami EKG.^{1,9}

Pracovní charakteristiky

Data přesnosti byla získávána na několika místech následujícím způsobem: Duplikáty každé kontrolní kapaliny se testovaly denně po dobu 20 dnů na každé ze tří šarží kazet, celkem tedy 120 opakovaných měření. Zprůměrované statistiky jsou uvedeny níže.

Data srovnávací metody byla sbírána pomocí pokynů CLSI EP9-A2.¹⁰ Vzorky venózní krve byly shromážděny do evakuovaných zkumavek s heparinem a byly analyzovány duplicitně na systému i-STAT. Část vzorku byla centrifugována a oddělená plazma byla zanalyzována duplicitně na systému i-STAT a srovnávací metodou do 1 hodiny od odběru.

Demingova regresní analýza¹¹ byla provedena u prvního měření každého vzorku. V tabulce porovnání metod je „n“ počet vzorků v první sadě dat, S_{xx} a S_{yy} jsou odhady nepřesnosti určené na základě duplikátů porovnání metod a metod systému i-STAT, v tomto pořadí. $S_{y.x}$ je standardní chyba odhadu a „r“ je korelační koeficient.*

Porovnání metod se může na jednotlivých pracovištích lišit kvůli způsobu zpracování vzorků, kalibraci srovnávací metody a dalších specifických proměnných daného pracoviště.

Studie interference byly založeny na základě pokynů CLSI EP7-A.¹²

* Zde je pro připomínku shrnuto obvyklé varování, které se týká regresní analýzy. Pro jakýkoli analyt: „pokud jsou data v krátkém rozmezí, budou odhady regresních parametrů relativně nepřesné a mohou být zkreslené. Predikce provedené na základě těchto odhadů proto mohou být neplatné.“¹⁰ Při překonávání tohoto problému lze použít jako vodítko k určení přiměřenosti rozsahu srovnávací metody korelační koeficient, „r“. Rozsah dat lze považovat za přiměřený pro účely vodítky v případě, že je $r > 0,975$.

Data přesnosti (ng/mL)

Kontrola plazmy	Průměr	SD	Variační koeficient %
Úroveň 1	5,9	0,7	11,9
Úroveň 2	25,8	2,7	10,4
Úroveň 3	90,1	9,0	10,0

Porovnání metod (ng/mL)

Abbott AxSYM

n	263
Sxx	1,84
Syy	2,66
Sklon	1,01
Int't	-0,19
Sy.x	3,98
Xmin	0,04
Xmax	224
r	0,994

Analytické citlivosti

Citlivost metody CK-MB je 0,6 ng/mL, což je nejnižší detekovatelná úroveň CK-MB vyšší než nula. Analytická citlivost je definována jako dvě standardní odchylky spojené s nulovým kalibrátorem. Analytická citlivost byla odhadnuta pomocí kontrolního materiálu s <1 ng/mL CK-MB během 20denní studie přesnosti, ve které byly tři samostatné šarže testovacích kazet CK-MB duplicitně testované pomocí souboru šesti analyzátorů i-STAT 1 pro celkem 120 výsledků testu.

Analytická specifická

Metoda CK-MB je specifická pro izoenzym kreatinkinázy MB. Byly testovány následující svalové proteiny a bylo zjištěno, že mají na měřenou CK-MB zanedbatelný účinek.

Zkřížený reaktant	Koncentrace	Procentní zkřížená reaktivita
CK-MM (kosterní)	10000 ng/mL	Nedetekovatelné
CK-BB (mozkový)	100 ng/mL	Nedetekovatelné

Výtěžnost

Linearita ředění testu i-STAT CK-MB byla zkoumána pomocí vzorků heparinizované plné krve a plazmy získaných od tří různých dárců. Pro každého dárce byl připraven původní negativní vzorek CK-MB a obohacený vzorek CK-MB. Tento proces poskytl tři pozitivní vzorky CK-MB plné krve, které byly poté duplicitně testovány pro každou ze tří samostatných šarží kazet i-STAT CK-MB. Tyto vzorky plné krve byly poté naředěny pomocí stejné hmotnosti původní neošetřené plné krve a duplicitně analyzovány. Na základě těchto údajů plné krve byla vypočítána výtěžnost CK-MB.

Plazma získaná od těchto tří dárců byla kombinována ve stejných hmotnostech a všech párových kombinacích. Tyto kombinace byly poté duplicitně testovány pro každou ze tří samostatných šarží kazet i-STAT CK-MB. Výtěžnost CK-MB pro každý pár byla vypočítána z průměru šesti výsledků. Procentní výtěžnosti jsou uvedeny v tabulce níže,

Plná krev

Vzorek	Koncentrace (ng/mL)	Ředěná koncentrace (ng/mL)	Procentní výtěžnost
A	73,24	40,73	108,7%
B	8,90	6,07	101,5%
C	47,74	26,91	109,3%

Plazma

Vzorek	Koncentrace (ng/mL)	Ředěná koncentrace (ng/mL)	Procentní výtěžnost
A	73,24	—	—
B	8,90	—	—
C	47,74	—	—
A+B	—	42,17	102,7%
B+C	—	30,85	108,9%
A+C	—	63,95	105,7%

Omezení testu

Frekvence potlačených výsledků je ovlivněna atmosférickým tlakem. Potlačené výsledky se mohou při vyšších nadmořských výškách (snížený barometrický tlak) zvyšovat a pokud je testování prováděno ve výšce nad 7500 stop nad mořem, mohly by zůstat perzistentní. Pokud je nedostupnost výsledků nepřijatelná, systém i-STAT doporučuje mít k dispozici alternativní testovací metodu.

Vzorky od pacientů, kteří byli v kontaktu se zvířaty nebo kteří podstoupili terapeutické či diagnostické postupy využívající imunoglobuliny nebo činidla získaná z imunoglobulinů, mohou obsahovat protilátky, např. HAMA nebo jiné heterofilní protilátky, které mohou interferovat s imunotesty a vést k chybným výsledkům.¹³⁻¹⁹ V reakci na bakteriální infekce bylo nahlášeno vytváření potenciálně interferujících protilátek.¹³ Přestože tento produkt obsahuje činidla, která minimalizují účinek těchto interferentů, a algoritmy QC určené k detekci jejich účinků, v případě rozporů v klinických informacích by měla být pečlivě zvážena možnost interference způsobující chybné výsledky.

Částečně sražené vzorky mohou vést ke zvýšeným hodnotám CK-MB nad referenčním rozsahem i k chybám kontrolního kódu kvality. Aby se tomu zabránilo, musí být vzorek po odebrání plné krve do sběrné zkumavky s heparinem opatrně nejméně 10krát převrácen, aby se zajistilo rovnoměrné rozpuštění heparinového antikoagulantu.

Hrubě hemolyzované vzorky mohou způsobit sníženou aktivitu alkalické fosfatázy, což vede ke snížené detekci CK-MB, zvýšeným pozadím analýzy a/nebo kontrolním kódům kvality.

Bylo prokázáno, že hematokrit v rozsahu 0–70 % PCV neovlivňuje výsledky. U vzorků s hladinami hematokritu nad tímto rozsahem se prokázalo zvýšení nepřesnosti testu a kontrolních kódů kvality.

Analyzátor musí být během testu na rovném povrchu tak, aby jeho displej směřoval nahoru. Pohyb analyzátoru během testování může zvýšit frekvenci potlačených výsledků nebo kontrolní kódy kvality. Rovný povrch zahrnuje spuštění ručního přístroje na načítací/nabíjecí stanici.

Testování interferencí

Po přidání do plazmy obsahující přibližně 20 ng/mL izoenzymu kreatinkinázy MB by následující látky neměly na metodu CK-MB při uvedených koncentracích významný účinek (méně než 10 %)

Látka	Testovaná úroveň ($\mu\text{mol/L}$, není-li uvedeno jinak)
Acetaminofen	1660
Alopurinol	294
Ampicilin	152
Kyselina askorbová	227
Kyselina acetylsalicylová	3330
Atenolol	37,6
Kofein	308
Kaptopril	23
Chloramfenikol	155
Diclofenac	169
Digoxin	6,15
Dopamin	5,87
Enalaprilat	0,86
Erytromycin	81,6
Furosemid	181
Heparin sodný	90 u/mL
Ibuprofen	2425
Isosorbid dinitrát	636
Metyldopa	71
Nikotin	6,2
Nifedipin	1156
Fenytoin	198
Propranolol	7,71
Kyselina salicylová	4340
Teofylin	222
Verapamil	4,4
Warfarin	64,9

Reference

1. Braunwald, E, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* 2002, 40: 1366-1374.
2. D.W. Moss, A.R. Henderson, "Enzymes" in *Tietz Textbook of Clinical Chemistry – Second Edition*, C.A. Burtis and E.R. Ashwood, eds. (Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994).
3. Apple FS, Murakami MA. Cardiac Troponin and Creatine Kinase MB Monitoring during In-Hospital Myocardial Reinfarction, *Clin Chem* 2005, 51(2): 460-463.
4. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000, 36: 970-1062.
5. Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction defined – a consensus document of the joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000, 36: 959-969.
6. Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M, et al. It's time for a change to a troponin standard. *Circulation* 2000, 102: 1216-1220.
7. Newby LK, Alpert JS, Ohman EM, Thygesen K, Califf RM. Changing the diagnosis of acute myocardial infarction: implications for practice and clinical investigations. *Am Heart J* 2002, 144: 957-980.
8. Apple FS, Sharkey SW, Falahati A, Murakami MA, Mitha N, Christensen D. Assessment of left ventricular function using serum cardiac troponin I measurements following myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta* 1998, 272: 59-67.
9. A.S. Maisel, "Point-of-Care Diagnosis and Management of Myocardial Infarction and Congestive Heart Failure" in *Principles & Practice of Point-of-Care Testing*, G.J. Kost, ed. (Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI document EP9-A2 [ISBN 1-56238-472-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.
11. P.J. Cornbleet and N. Gochman, "Incorrect Least-Squares Regression Coefficients in Method-Comparison Analysis," *Clinical Chemistry* 25:3, 432 (1979).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline*. CLSI document EP7-A [ISBN 1-56238-480-5]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Immunoassay Interference by Endogenous Antibodies; Proposed Guidelines*. CLSI document I/LA30-P (ISBN 1-56238-633-6) Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.
14. Bjerner et al. Immunometric Assay Interference: Incidence and Prevention. *Clin. Chem.* 2002; 48:613.
15. Kricka, Interferences in Immunoassays - Still a Threat. *Clin. Chem.* 200; 46:1037.
16. Schroff et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res.* 1985; 45:879.
17. Primus et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin. Chem.* 1988; 34:261.
18. Nahm et al. Heteroantibody: phantom of the immunoassay. *Clin. Chem.* 1990; 36:829.
19. Boscato et al. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem.* 1988; 34:27.

i-STAT is a trademark of the Abbott group of companies.



Abbott Point of Care Inc.
Abbott Park, IL 60064 • USA



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
Nizozemsko



©2018 Abbott Point of Care Inc. Všechna práva vyhrazena. Vytisknuto v USA