



KINAZA KREATYNOWA MB/ (CK-MB)

Przeznaczenie

Test i-STAT CK-MB jest testem diagnostycznym *in vitro* przeznaczonym do ilościowego pomiaru masy kinazy kreatynowej MB w próbkach krwi pełnej lub osocza. Pomiary CK-MB mogą być pomocne w diagnostyce i leczeniu zawału mięśnia sercowego (MI).

Objaśnienie metody

We wkładach testowych i-STAT CK-MB stosowana jest metoda dwumiejscowego testu immunoenzymosorpcyjnego (ELISA). Przeciwciała swoiste dla epitopu charakterystycznego dla podjednostki CK-MB, które w związku z tym nie wiążą się z CK-MM ani CK-BB, są umieszczone na elektrochemicznym czujniku wykonanym na chipie krzemowym. W innym miejscu chipu krzemowego czujnika umieszczony jest koniugat, czyli przeciwciało połączone wiązaniem kowalencyjnym z enzymem w postaci fosfatazy alkalicznej, swoisty dla epitopu podjednostki B kinazy kreatynowej. Swoistość przeciwciała koniugatu dla podjednostki B pozwala koniugatowi na rozpoznanie CK-MB i CK-BB, ale nie CK-MM. Próbkę krwi pełnej lub osocza styka się z czujnikami, umożliwiając rozpuszczenie się koniugatu enzymatycznego w próbce. CK-MB zawarta w próbce jest znakowana fosfatazą alkaliczną i wychwytywana na powierzchni czujnika elektrochemicznego w okresie inkubacji trwającym około 3 minut. Próbkę oraz nadmiar koniugatu enzymatycznego są wymywane z czujników. W płynie płuczącym znajduje się substrat dla enzymu fosfatazy alkalicznej. Enzym związany z kompleksem („kanapką”) przeciwciało-antygen-przeciwciało rozrywa wiązania substratu, uwalniając produkt wykrywany elektrochemicznie. Czujnik elektrochemiczny (amperometryczny) mierzy taki produkt, który jest proporcjonalny do stężenia CK-MB w próbce.

Zawartość

Każdy wkład i-STAT CK-MB posiada wlot próbki, czujniki wykrywające CK-MB zgodnie z powyższym opisem oraz wszystkie odczynniki niezbędne do wykonania testu. Wkład zawiera bufor i konserwanty. Poniżej znajduje się lista składników reaktywnych:

Składnik reaktywny	Źródło biologiczne	Minimalna ilość
Koniugat przeciwciała z fosfatazą alkaliczną	Mysie przeciwciało IgG: Jelito bydlęce	0,013 µg
IgG	Kozie przeciwciało IgG: Mysie przeciwciało IgG	4 µg
Fosforan aminofenyłowy sodowy	Nie dotyczy	0,9 mg
Heparyna	Jelito świńskie	0,45 IU

Identyfikowalność metrologiczna

Test systemu i-STAT na poziom kinazy kreatynowej MB (CK-MB) umożliwia pomiar stężenia masowego kinazy kreatynowej MB w osoczu lub frakcji osocza krwi pełnej żyłnej (jednostka: ng/mL) do stosowania w diagnostyce *in vitro*. Wartości kinazy kreatynowej MB przypisane do kontroli systemu i-STAT są zgodne z kalibratorem Amerykańskiego Stowarzyszenia Chemików Klinicznych (AACC; rekombinowana ludzka CK-MB firmy Seradyn Inc.) do standaryzacji oznaczeń masy kinazy kreatynowej. Kontrole systemu i-STAT oraz materiały do weryfikacji kalibracji zostały zatwierdzone do użytku wyłącznie z systemem i-STAT, a przypisane wartości mogą nie być zamienne z innymi metodami. Dalsze informacje dotyczące identyfikowalności metrologicznej można uzyskać w firmie Abbott Point of Care Inc.

Zakres pomiaru

Test i-STAT CK-MB wyświetla wyniki w zakresie od 0,0 do 150,0 ng/mL (µg/L). W przypadku próbek o zawartości przekraczającej zakres wyświetlania na ekranie wyświetlacza widnieje odczyt „>150.0 ng/mL”.

Zakres referencyjny

Próbki krwi pełnej i osocza od 161 zasadniczo zdrowych dawców zostały zbadane równolegle przy użyciu trzech różnych partii wkładów i-STAT CK-MB. W zakresie wyników od 0 do 95% wartości wyniosły od 0,0 ng/mL (µg/L) do 3,5 ng/mL (µg/L).

Uwaga: Każda placówka powinna ustalić własny zakres referencyjny dla testu i-STAT CK-MB.

Istotność kliniczna

Stwierdzono, że masa CK-MB jest przydatnym parametrem w diagnostyce zawału mięśnia sercowego, ponownego zawału mięśnia sercowego i rozległości zawału.

W celu zapewnienia optymalnej przydatności diagnostycznej marker sercowy powinien być swoisty dla tkanki sercowej, szybko uwalniany do krwiobiegu z wprost proporcjonalną zależnością pomiędzy stopniem uszkodzenia mięśnia sercowego a wynikiem pomiaru i powinien utrzymywać się we krwi przez czas dostatecznie długi do wygodnego przeprowadzenia diagnostyki¹.

Kinaza kreatynowa (CK) jest enzymem dimerycznym występującym głównie w tkance mózgowej i mięśniowej. Kinaza kreatynowa występuje w trzech izoformach: BB, MM i MB. BB występuje głównie w mózgu. Mięśnie szkieletowe zawierają przede wszystkim izoformę MM ze śladowymi ilościami MB (szacunkowo 1–4% aktywności CK). Mięsień sercowy także zawiera głównie izoformę MM, ale z większymi ilościami MB, zwykle około 20% aktywności CK². Surowica od zdrowych osób zwykle zawiera izoformę MM i niewielką ilość izoformy MB. CK-MB może być uwalniany do krwiobiegu w różnych stanach, w tym przy uszkodzeniach mięśni szkieletowych i mięśnia sercowego.

Wzrost poziomu CK-MB w krwiobiegu następuje w ciągu 4–6 godzin od wystąpienia zawału mięśnia sercowego (MI). Stężenie osiąga wartość szczytową po około 24 godzinach i powraca do wartości wyjściowej po 36–72 godzinach. Ponieważ poziom CK-MB nie jest swoisty dla mięśnia sercowego, wyniki pojedynczego testu nie wystarczą do rozpoznania zawału mięśnia sercowego (MI). Zazwyczaj zawał mięśnia sercowego jest diagnozowany na podstawie profilu analiz CK-MB wykonywanych co 3 godziny przez okres od 6 do 9 godzin lub co 6 do 8 godzin przez okres 24 godzin.

Chociaż troponiny swoiste dla mięśnia sercowego — troponina I (cTnI) i troponina T (cTnT) — są obecnie uważane za preferowane markery biochemiczne do oceny ostrych zespołów wieńcowych (OZW), w tym zawału mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST, zawału mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST oraz niestabilnej dusznicy, poziom CK-MB może służyć za marker pomocniczy w diagnostyce zawału mięśnia sercowego i pomiarze martwicy mięśnia sercowego. Ponieważ we krwi zdrowych osób mogą być wykrywane tylko niskie poziomy CK-MB, każda wartość CK-MB powyżej 95. percentyla może wskazywać na pewien stopień martwicy mięśnia sercowego¹. Każda placówka powinna wyznaczyć własny zakres referencyjny dla swoich pacjentów, na podstawie którego należy ustalić odpowiednią wartość progową wskazującą na ostry zawał mięśnia sercowego (AMI).

W dokumencie konsensusu Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego i Amerykańskiego Kolegium Kardiologicznego stwierdzono, że w warunkach klinicznych ponownego zawału parametr CK-MB może być bardziej przydatny do monitorowania zawału mięśnia sercowego niż troponiny sercowe I (cTnI) i T (cTnT), ponieważ CK-MB utrzymuje się na podwyższonym poziomie tylko przez 2–4 dni od zawału, natomiast cTnI do 5 dni, a cTnT do 10 dni^{3,4,5,6,7}. Badania kliniczne wykazały również ścisłą zależność między stopniem uszkodzenia mięśnia sercowego (rozległością zawału) a stężeniem CK-MB w surowicy krwi⁸. Analogicznie zaobserwowano istotne korelacje pomiędzy oszacowaniem rozległości zawału na podstawie CK-MB a echokardiografią lewej komory⁸.

Inne stany związane z uszkodzeniem mięśni szkieletowych, takie jak wypadki, tępe urazy, ciężkie oparzenia i skrajny wysiłek fizyczny, czy też zaburzenia miopatyczne, takie jak zapalenie mięśnia sercowego, które nie jest następstwem niedokrwiennej choroby wieńcowej, mogą również prowadzić do urazów mięśni szkieletowych lub mięśnia sercowego i potencjalnie podwyższać stężenia CK-MB we krwi. Takie stany należy brać pod uwagę podczas interpretacji wyników, a poziom CK-MB należy rozpatrywać w połączeniu z objawami przedmiotowymi i subiektywnymi, wywiadem chorobowym pacjenta i zmianami w EKG^{1,9}.

Charakterystyka dokładności

Dane dotyczące precyzji zebrano w wielu placówkach w następujący sposób: Duplikaty każdej kontroli były testowane codziennie przez okres 20 dni dla każdej z trzech partii wkładów, co dało w sumie 120 powtórzeń. Poniżej przedstawiono średnie dane statystyczne.

Dane do porównania metod zostały zebrane z zastosowaniem wytycznych CLSI EP9-A2¹⁰. Próbkę krwi żyłnej pobrano do heparynizowanych probówek próżniowych i przeanalizowano równolegle w systemie i-STAT. Część próbek odwirowano, a oddzielone osocze w ciągu godziny od pobrania przeanalizowano równolegle w systemie i-STAT i przy użyciu metody porównawczej.

Pierwszą replikę każdej próbki poddano analizie metodą regresji Deminga¹¹. W tabeli porównania metod n jest liczbą próbek w zestawie danych, Sxx i Syy to oszacowania niedokładności analizy równoległej odpowiednio metodą porównawczą i metodą i-STAT. Sy.x jest standardowym błędem oszacowania, a r jest współczynnikiem korelacji*.

Porównania metod różnią się w zależności od placówki z powodu różnic w obchodzeniu się z próbkami, kalibracji metod porównawczych i innych zmiennych specyficznych dla placówki.

Badania interferencji przeprowadzono na podstawie wytycznych CLSI EP7-A¹².

*Dla przypomnienia podsumowano typowe ostrzeżenie dotyczące korzystania z analizy metodą regresji. W przypadku każdego analitu: „jeśli dane są gromadzone w wąskim zakresie, oszacowanie parametrów regresji jest względnie niedokładne i może być obciążone błędem systematycznym. Dlatego też prognozy dokonane na podstawie tych szacunków mogą być nieprawidłowe.”¹⁰. Współczynnik korelacji, r, może służyć za wyznacznik odpowiedniości zakresu danych dla metod porównawczych w celu rozwiązania tego problemu. Zakres danych można uznać za odpowiedni przy $r > 0,975$.

Dane precyzji (ng/mL)

Kontrola osocza	Średnia	SD	%CV
Poziom 1	5,9	0,7	11,9
Poziom 2	25,8	2,7	10,4
Poziom 3	90,1	9,0	10,0

Abbott AxSYM

n	263
Sxx	1,84
Syy	2,66
Nachylenie	1,01
Pkt przecięcia	-0,19
Sy.x	3,98
Xmin	0,04
Xmax	224
r	0,994

Czułość analityczne

Czułość metody CK-MB 0,6 ng/mL, co jest najniższym poziomem CK-MB odróżnialnym od zera. Czułość analityczną definiuje się jako wartość przy dwóch odchyleniach standardowych względem kalibratora zerowego. Czułość analityczną oszacowano przy użyciu materiału kontrolnego o stężeniu CK-MB < 1 ng/mL w trakcie 20-dniowego badania precyzji, w którym równolegle testowano wkłady testowe CK-MB z trzech różnych partii przy użyciu grupy sześciu analizatorów i-STAT 1, uzyskując w sumie 120 wyników.

Swoistość analityczna

Metoda CK-MB jest swoista dla izoenzymu MB kinazy kreatynowej. Na podstawie testów stwierdzono, że poniższe białka mięśniowe mają pomijalny wpływ na wyniki pomiaru CK-MB.

Reagent krzyżowy	Stężenie	Procentowa reaktywność krzyżowa
CK-MM (mięśnie szkieletowe)	10000 ng/mL	Niewykrywalne
CK-BB (mózg)	100 ng/mL	Niewykrywalne

Odzysk

Liniiowość rozcieńczania w teście i-STAT CK-MB badano z użyciem próbek heparynizowanej krwi pełnej i osocza pobranych od 3 różnych dawców. Dla każdego dawcy przygotowano oryginalną próbkę z ujemnym wynikiem CK-MB i próbkę z CK-MB. W rezultacie tego procesu otrzymano trzy próbki krwi pełnej z dodatnim wynikiem CK-MB, które zostały następnie przeanalizowane równolegle z użyciem wkładów i-STAT CK-MB z trzech oddzielnych partii. Te próbki krwi pełnej zostały następnie rozcieńczone jednakową masą pierwotnej krwi pełnej bez dodanego analitu i poddane analizie równoległej. Na podstawie tych danych dotyczących krwi pełnej obliczono odzysk CK-MB.

Osocze uzyskane od tych trzech dawców połączono w równej masie i we wszystkich kombinacjach parami. Kombinacje przeanalizowano równolegle z użyciem wkładów i-STAT CK-MB z trzech oddzielnych partii. Odzysk CK-MB dla każdej pary obliczono z użyciem średniej z 6 wyników. Wartości % odzysku wyszczególniono w poniższych tabelach.

Krew pełna

Próbka	Stężenie (ng/mL)	Stężenie po rozcieńczeniu (ng/mL)	% odzysku
A	73,24	40,73	108,7%
B	8,90	6,07	101,5%
C	47,74	26,91	109,3%

Osocze

Próbka	Stężenie (ng/mL)	Stężenie po rozcieńczeniu (ng/mL)	% odzysku
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%

Ograniczenia testu

Na częstotliwość niedostępności wyników wpływa ciśnienie atmosferyczne. Niedostępność wyników może występować częściej wraz ze wzrostem wysokości n.p.m. (zmniejszone ciśnienie barometryczne) i może być trwała przy przeprowadzaniu testów na wysokości ponad 2286 m n.p.m. W przypadkach, gdy niedostępność wyników jest niedopuszczalna, producent systemu i-STAT zaleca stosowanie alternatywnej metody testowej.

Próbki pochodzące od pacjentów mających kontakt ze zwierzętami lub poddawanych zabiegom terapeutycznym czy diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub odczynników wyodrębnionych z immunoglobulin mogą zawierać przeciwciała, np. HAMA lub inne przeciwciała heterofilne, które mogą zakłócać wyniki testów immunologicznych¹³⁻¹⁹. W piśmiennictwie podano grupę potencjalnie zakłócających przeciwciał powstających w odpowiedzi na zakażenia bakteryjne¹³. Wprowadzie produkt zawiera odczynniki, które minimalizują wpływ takich substancji zakłócających, oraz algorytmy KJ wykrywające ich skutki, ale możliwość wystąpienia zakłóceń powodujących błędne wyniki należy dokładnie ocenić w przypadku wystąpienia niespójności w danych klinicznych.

Częściowo wykrzepione próbki mogą wykazywać wzrost wyników CK-MB powyżej zakresu referencyjnego, a także błędy kontroli jakości. Aby temu zapobiec, po pobraniu próbki krwi pełnej do heparynizowanej probówki należy ją delikatnie odwrócić co najmniej 10 razy, co zapewni równomierne rozpuszczenie antykoagulantu heparynowego.

Próbki o bardzo wysokim stopniu hemolizy mogą wykazywać mniejszą aktywność fosfatazy alkalicznej, co skutkuje zmniejszonym wykrywaniem CK-MB, zwiększonym poziomem tła w testach i/lub występowaniem kodów kontroli jakości.

Wykazano, że na wyniki nie wpływają wartości hematokrytu w zakresie 0-70% PCV. Próbki o poziomie hematokrytu powyżej tego zakresu wykazywały wzrost niedokładności testu i kody kontroli jakości.

Podczas wykonywania testu analizator musi stać na płaskiej, poziomej powierzchni, a wyświetlacz powinien być skierowany do góry. Ruch analizatora w trakcie testu może zwiększyć częstotliwość niedostępności wyników lub kodów kontroli jakości. Poziom uważa się za zachowany także wówczas, gdy analizator ręczny znajduje się w module pobierania/ładowania.

Badanie interferencji

Po dodaniu do puli osocza zawierającej około 20 ng/mL izoenzymu MB kinazy kreatynowej stwierdzono, że następujące substancje nie wykazują znaczącego wpływu (poniżej 10%) na metodę CK-MB w podanych stężeniach.

Związek	Poziom testu ($\mu\text{mol/L}$, o ile nie podano inaczej)
Acetaminofen	1660
Allopurynol	294
Ampicylina	152
Kwas askorbinowy	227
Kwas acetylosalicylowy	3330
Atenolol	37,6
Kofeina	308
Kaptopryl	23
Chloramfenikol	155
Diklofenak	169
Digoksyna	6,15
Dopamina	5,87
Enalaprilat	0,86
Erytromycyna	81,6
Furosemid	181
Heparyna sodowa	90 U/mL
Ibuprofen	2425
Diazotan izosorbidu	636
Metyldopa	71
Nikotyna	6,2
Nifedypina	1156
Fenytoina	198
Propranolol	7,71
Kwas salicylowy	4340
Teofilina	222
Werapamil	4,4
Warfaryna	64,9

Piśmiennictwo

1. Braunwald, E i wsp. 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” w Tietz Textbook of Clinical Chemistry — wydanie drugie, C.A. Burtis i E.R. Ashwood, red. (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 i wsp. 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 i wsp. 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, red. (Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline* — wydanie drugie. CLSI, dok. 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 i 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, dok. 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, dok. 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 i wsp. 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 i wsp. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res. 1985; 45:879.
17. Primus i wsp. „Sandwich”-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. Clin. Chem. 1988; 34-261.
18. Nahm i wsp. Heteroantibody: phantom of the immunoassay. Clin. Chem. 1990; 36:829.
19. Boscatto i wsp. 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
The Netherlands



©2018 Abbott Point of Care Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone. Wydrukowano w USA