



# CK-MB

(Enzymatic-ImmunoInhibition Method)

## جمع آوری و آماده سازی نمونه

- نمونه سرم و پلاسما هیپارینه
- پایداری آنالیت در نمونه در صورت نگهداری در دمای °C 2-8 ، به مدت ۷ روز است.
- فعالیت CK-MB در صورت نگهداری در دمای محیط بعد از یک ساعت ۱۰ درصد کاهش می یابد.
- از نمونه همولیز شده استفاده نکنید.

## تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R2 و R1
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترل‌های های نرمال و پاتوزن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر/توانالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

## روش انجام آزمایش

### پارامترهای دستگاهی

340 nm	طول موج
25/30/37°C	دما
1 cm	طول مسیر عبور نور
Kinetic	نحوه خوانش

### نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
200µL	200µL	200µL	معرف ۱ (R1)
-	-	10µL	آب مقطر
10µL	-	-	نمونه
-	10µL	-	استاندارد
مقادیر بالا مخلوط شده و 5 دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود. سپس R2 اضافه شود.			
50µL	50µL	50µL	معرف ۲ (R2)
مقادیر بالا مخلوط شده و پس از سه دقیقه انکوبه کردن در دمای 37°C جذب نمونه (AS) نسبت به جذب نمونه بلانک در طی ۳ دقیقه اندازه گیری شود. ΔA/min. اندازه گیری شود			

تمامی پارامترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی های هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.

## محاسبات

$$\text{Lipase (U/l)} = \frac{\Delta AS / \text{min Sample}}{\Delta AC / \text{min calibrator}} * \text{Con. Of calibrator}$$

Or

$$\Delta A * 1651 = \text{CK-MB (U/l)}$$

$$\Delta A * 825 = \text{CK-B (U/l)}$$

## هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی Creatine kinase-MB موجود در سرم ویلازما به روش Enzymatic استفاده می شود.

## اهمیت بالینی

کراتین کیناز یک آنزیم دایمری متشکل از زیرواحدهای M و B است که برای تشکیل ایزوآنزیم های CK-MM، CK-MB و CK-BB استفاده می شود. پس از انفارکتوس میوکارد، سطح CK-MM افزایش می یابد و بین ۱۸ تا ۳۰ ساعت به اوج خود می رسد. این میزان افزایش متناسب با افزایش کل فعالیت CK است. CK-MB نیز در اثر MI افزایش می یابد، اما ۱۲ ساعت زودتر از CK-MM به اوج خود می رسد بنابراین از آن به عنوان یک شاخص اولیه مهم MI استفاده می کنند.

## اساس اندازه گیری

معرف حاوی یک آنتی بادی است که به زیر واحد M در CK متصل می شود و فعالیت این زیرواحد را مهار می کند. در این شرایط زیرواحد B آنزیم آزاد باقی می ماند تا روی سوبسترای موجود عمل کند. CK در فرآیند انتقال یک گروه فسفات از کراتین فسفات به آدنوزین دی فسفات به عنوان کاتالیزور عمل می کند. محصول این واکنش کراتین و آدنوزین تری فسفات است. ATP تشکیل شده برای تولید گلوکز-۶-فسفات و ADP از گلوکز استفاده می شود. گلوکز-۶-فسفات و NADP در حضور G6PDH اکسید شده و تشکیل NADPH و ۶- فسفولگوکونات می دهد. که در ناحیه 340 nm جذب دارد.

## معرف ها

R1	Good Buffer	50 mmol/l
	NADP	0.2 mmol/l
	Hexokinase	0.5 mmol/l
	MgCl2	15 mmol/l
	D-Glucose	1.5 mmol/l
	EDTA	25 mmol/l
R2	Good Buffer	50 mmol/l
	Creatine Phosphate	0.3 mmol/l
	G6-PD	0.4 mmol/l
	ADP	0.6 mmol/l

\*معرف ها مایع و آماده مصرف است.

## پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای °C 2-8 نگهداری شود.
- از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.

## نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و غشاء مخاطی پرهیز کنید. موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها (MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.



## CK-MB (Enzymatic-ImmunoInhibition Method)

Triglycerides	≤250mg/dl
Hemoglobin	≤100 mg/dl

### کنترل کیفیت

هر بار که کیت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.

### منابع

1. Young D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, DC 5th ed. 2000
2. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
3. Friedrich Lottspeich , Joachim Engels, Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology, Wiley-VCH 2018

### مقادیر مرجع

Serum-Plasma (37 °C)	34 (U/l)
Serum-Plasma (25 °C)	10(U/L)

- هر آزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج CK-MB باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

### پارامترهای کارایی کیت

#### ۱- دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

برای بررسی نمونه ای با غلظت بالا (1000 U/l) در سطوح غلظتی متفاوت رقیق شد. هر نمونه سه بار اندازه گیری و محدوده خطی (8-800 U/l) تعیین شد. ضریب همبستگی (R) ۰.۹۹ و انحراف نسبی بین غلظت اندازه گیری شده و مقدار تخمینی کمتر از ۱۰٪ بود. نمونه های با غلظت بالاتر باید رقیق شوند.

#### ۲- حساسیت (Sensitivity)

حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 8 U/l

#### ۳- دقت (Precision)

##### ۱- اینترا اسی - تکرارپذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Intra-Assay Precision (within-run) n=20			
CV%	SD	میانگین (U/l)	نمونه
2.14	0.9	41.94	Level 1
1.18	2.19	185.51	Level 2

##### ۱- اینترا اسی - دقت

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Inter-Assay Precision (between-run) n=20/day			
CV%	SD	میانگین (U/l)	نمونه
0.91	0.38	41.89	Level 1
1.86	3.39	182.74	Level 2

#### ۴- صحت (مقایسه روش ها)

مقایسه ای بین کیت شرکت بهان با یکی از کیت های معتبر بازار بر روی ۶۰ نمونه نتایج زیر بدست آمد.

ضریب همبستگی (R): 0.97

$$Y = 0.9885x + 0.6841$$

#### ۵- بررسی تداخلات احتمالی

آنالیت های زیر در مقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی دهند.

Bilirubin	≤ 35 mg/dl
-----------	------------