

CK-MB-LQ (Creatine kinase – MB)

Anti CK-M. Immunoinhibition. Kinetic UV. Liquid

Quantitative determination of creatine kinase MB (CK-MB) IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

The procedure involves measurement of CK activity in the presence of an antibody to CK-M monomer. This antibody completely inhibits the activity of CK-MM and half of the activity of CK-MB while not affecting the B subunit activity of CK-MB and CK-BB. Then it's used the CK method to quantitatively determine CK-B activity^{1,2}. The CK-MB activity is obtained by multiplying the CK-B activity by two.

CLINICAL SIGNIFICANCE

CK-MB is an enzyme formed by the association of two subunits from muscle (M) and nerve cells (B). CK-MB is usually present in serum at low concentration; it is increased after an acute infarct of myocardium and later descends at normal levels. Also is increased, rarely, in skeletal muscle damage^{5,6,7,8}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	Imidazol, pH 6.7	125 mmol/L
	D-Glucose	25 mmol/L
	N-Acetyl-L-Cysteine	25 mmol/L
	Magnesium acetate	12,5 mmol/L
	NADP	2,52 mmol/L
	EDTA	2,02 mmol/L
	Hexokinase	≥6 800 U/L
Anti-human polyclonal CK-M antibody (sheep) sufficient to inhibit up to 2000 U/L of CK-MM		
R 2	ADP	15,2 mmol/L
	AMP	25 mmol/L
	di-Adenosine-5- pentaphosphate	103 mmol/L
	Glucose-6-phosphate dehydrogenase	≥8 800 U/L
	Creatine phosphate	250 mmol/L

Optional

CK-NAC / CK-MB CONTROL	Lyophilized human serum	Ref: 1002260
------------------------	-------------------------	--------------

PRECAUTIONS

R1: H360-May damage fertility or the unborn child. Contains: Imidazole (C3H4N2) Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

Working reagent (WR): Mix 4 volumes of reagent 1 with 1 volume of reagent 2. Stability: 7 days at 2-8°C or 12 hours at room temperature (20-25°C).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented. Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm ≥ 1,2.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C ó 37° C (± 0,1°C).
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum free of hemolysis or heparin plasma: Stability 7 days at 2-8°C, protected from light.

CK-MB activity decreases a 10% after 24 hours at 4°C or 1 hour at 25°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 340 nm
Cuvette: 1 cm light path
Constant temperature 25°C / 30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette:

WR (mL)	1,0
Sample (µL)	40

- Mix and incubate 10 minutes.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read again after 5 minutes (A₂).
- Calculate the difference between absorbances ΔA = A₂ – A₁.

CALCULATIONS

$$\Delta A \times 825 = \text{U/L of CK-B} \quad \Delta A \times 1651 = \text{U/L of CK-MB}$$

Calculating factor in automatic analyzers by kinetic method (ΔA/min.) is 8255.

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1µmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,53	2,38
30°C	0,65	1,00	1,56
37°C	0,42	0,64	1,00

QUALITY CONTROL

CK-NAC/CK-MB specific control sera (Ref. 1002260) is recommended to monitor the performance of assay procedures.

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

The suspicion of myocardial damage is based on the three following factors:

CK-MB	25°C	30°C	37°C
> 10 U/L	> 15 U/L	> 24 U/L	
TOTAL CK	25°C	30°C	37°C
Men, up to	80 U/L	130 U/L	195 U/L
Women, up to	70 U/L	110 U/L	170 U/L

$$\frac{\text{CK - MB Activity}}{\text{CK Total Activity}} \times 100 = 6 - 25\% \text{ CK - MB Activity in the sample}$$

These values are for orientation purpose. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 1,9 U/L to linearity limit of 1000 U/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/1 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

Mean (U/L)	Intra-assay		Inter-assay	
	33,7	166,5	31,3	161,0
SD	1,00	3,76	1,19	3,47
CV (%)	2,96	2,26	3,81	2,15

Sensitivity: 1 U/L = 0,000134 (A).

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0,999.

Regression equation: y = 0,976 x - 0,269.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Bilirubin (mixed isomers): Less than 10% interference up to 600 µmol/L Bilirubin.

Hemolysis: Less than 10% interference up to 1,25 g/L Hemoglobin.

Lipemia: Les than 10% interference up to 2,5 g/L Intralipid.

A list of drugs and other interfering substances with CK determination has been reported^{3,4}.

LIMITATION OF THE PROCEDURE

The method will also measure any CK-BB isoenzyme present in serum. The activity of the isoenzyme is usually negligible, however, if a significant amount of CK-BB activity is present the CK-MB activity will be overestimated.

A macro form of BB (immunoglobulin complexed) has been observed wich will be measured as B in the assay. If the measured CK-B activity exceeds 20% of the total CK activity, the presence of macro BB should be suspected.

NOTES

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-1116.
- Gerhardt W et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.
- Mathieu M. et coll. Recommandation pour la mesure de la concentration catalytique de la créatinine kinase dans la sérum humain. Ann. Biol. Clin., 40, (1482), 87.
- Neumeier, D., Prellwitz, W., Würzburg, U. et coll. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity. Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarcton. Clin. Chim. Acta, 73, (1976), 445.

PACKAGING

Ref: 41254

Cont.

 R1: 1 x 60 mL
R2: 1 x 15 mL

CK-MB-LQ (Creatina quinasa – MB)

Anti CK-M. Inmuno-inhibición. Cinético UV. Líquido

Determinación cuantitativa de creatina quinasa-MB (CK-MB)

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método basado en la medición de la actividad de la CK en presencia del anticuerpo anti CK-M, que inhibe completamente la actividad de la CK-MM y la subunidad (M) de la CK-MB, no afectando a la actividad de la CK-B y la CK-BB. A través del método de la CK se determina la actividad de la CK-B en la muestra ensayada^{1,2}. La actividad de la CK-MB se obtiene multiplicando por dos la actividad de la CK-B.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La CK-MB es una enzima compuesta de dos subunidades, la subunidad M expresada en el músculo y la subunidad B, expresada en las células nerviosas. La CK-MB se encuentra en el suero en concentraciones bajas, se incrementa como consecuencia de un infarto de miocardio y después desciende a niveles normales. Puede incrementarse, más raramente, en traumatismos del músculo esquelético^{5,6,7,8}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Imidazol pH 6.7	125 mmol/L
	D-Glucosa	25 mmol/L
	N-Acetyl-L-Cysteine	25 mmol/L
	Acetato de magnesio	12.5 mmol/L
	NADP	2.52 mmol/L
	EDTA	2.02 mmol/L
	Hexokinase	≥6 800 U/L
Anticuerpo policlonal (oveja) anti CK-M humano suficiente para inhibir hasta 2 000 U/L de CK-MM		
R 2	ADP	15,2 mmol/L
	AMP	25 mmol/L
	di-Adenosina-5- pentafofato	103 mmol/L
	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH)	≥8 800 U/L
	Fosfato de creatina	250 mmol/L

Opcional

CK-NAC / CK-MB CONTROL	Suero humano liofilizado	Ref: 1002260
-------------------------------	--------------------------	--------------

PRECAUCIONES

R1: H360-Puede perjudicar a la fertilidad o al feto. Contiene: Imidazol (C3H4N2)
Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Mezclar 4 volúmenes de reactivo 1 con un volumen de reactivo 2.

Estabilidad: 7 días a 2-8°C o 12 horas a temperatura ambiente (20-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 340 ≥ 1,2.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340nm.
- Baño termoestable a 25°C, 30°C ó 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero libre de hemólisis o plasma heparinizado. Estabilidad: 7 días a 2-8°C, protegida de la luz.

La actividad de la CK-MB en el suero disminuye un 10% tras 24 horas a 4°C o tras 1 hora a 25°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura constante 25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (µL)	40

4. Mezclar e incubar 10 minutos.

5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia de nuevo a los 5 minutos (A₂).

6. Calcular la diferencia de absorbancias: ΔA = A₂ - A₁.

CÁLCULOS

$$\Delta A \times 825 = \text{U/L de CK-B}$$

$$\Delta A \times 1651 = \text{U/L de CK-MB}$$

El factor de cálculo en analizadores automáticos por método cinético (ΔA/min) es 8255.

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,53	2,38
30°C	0,65	1,00	1,56
37°C	0,42	0,64	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente utilizar el control de suero específico CK-NAC/ CK-MB (Ref.1002260).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

La sospecha de daño miocárdico se basa en las tres siguientes condiciones:

	25°C	30°C	37°C
CK-MB	> 10 U/L	> 15 U/L	> 24 U/L
CK TOTAL	25°C	30°C	37°C
Hombres, hasta	80 U/L	130 U/L	195 U/L
Mujeres, hasta	70 U/L	110 U/L	170 U/L

$$\frac{\text{Actividad de la CK - MB}}{\text{Actividad de la CK Total}} \times 100 = 6 - 25\% \text{ de actividad de CK - MB en la muestra}$$

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 1,9 U/L hasta el límite de linealidad 1000 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/1 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie		Interserie	
	Media (U/L)	SD	CV (%)	
Media (U/L)	33,7	166,5	31,3	161,0
SD	1,00	3,76	1,19	3,47
CV (%)	2,96	2,26	3,81	2,15

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,000134 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Coefficiente de correlación (r)²: 0,999.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,976 x - 0,269.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (mezcla de isómeros): Menos del 10% de interferencia hasta 600 µmol/L de Bilirrubina.

Hemólisis: Menos del 10% de interferencia hasta 1,25 g/L de Hemoglobina.

Lipemia: Menos del 10% de interferencia hasta 2,5 g/L de Intralípidos.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de CK-MB^{3,4}.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

Este método medirá también la actividad de la isoenzima CK-BB que esté presente en el suero, aunque suele ser insignificante. Sin embargo ante una presencia significativa de CK-BB, la actividad de la CK-MB presente sería sobreestimada.

Si la actividad de CK-B obtenida excede el 20% de la actividad de la CK total, debe sospecharse de la presencia de macro BB (complejo de inmunoglobulina), medida como B en el ensayo.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-1116.
2. Gerhardt W. et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.
7. Mathieu M. et coll. Recombination pour la mesure de la concentration catalytique de la créatinine kinase dans le sérum humain. Ann. Biol. Clin., 40, (1482), 87.
8. Neumeier, D., Prellwitz, W., Würzburg, U. et coll. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity. Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarction. Clin. Chim. Acta, 73, (1976), 445.

PRESENTACIÓN

Ref: 41254

Cont.

R1: 1 x 60 mL

R2: 1 x 15 mL

CK-MB-LQ (Créatine kinase – MB)

Anti CK-M. Immuno-inhibition. Cinétique UV. Liquide

Détermination quantitative de la créatine kinase-MB (CK-MB)

IVD

Conserver à 2 - 8 °C

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Méthode basée sur la mesure de l'activité de la CK en présence de l'anticorps anti CK-M, qui inhibe complètement l'activité de la CK-MM et la sous-unité (M) de la CK-MB, sans affecter l'activité de la CK-B et de la CK-BB. La méthode de la CK permet de déterminer l'activité de la CK-B dans l'échantillon testé^{1,2}. L'activité de la CK-MB est obtenue en multipliant par deux l'activité de CK-B.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La CK-MB est une enzyme composée de deux sous-unités, la sous-unité M exprimée dans le muscle et la sous-unité B, exprimée dans les cellules nerveuses. La CK-MB se trouve dans le sérum en faibles concentrations, elle augmente à la suite d'un infarctus du myocarde, puis diminue à des niveaux normaux. Elle peut augmenter, plus rarement, en cas de traumatismes musculo-squelettiques^{5,6,7,8}. Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

RÉACTIFS

R 1	Imidazole pH 6,7	125 mmol/L
	D-Glucose	25 mmol/L
	N-Acétyle-L-Cystéine	25 mmol/L
	Acétate de magnésium	12,5 mmol/L
	NADP	2,52 mmol/L
	EDTA	2,02 mmol/L
	Hexokinase	≥6 800 U/L
Anticorps polyclonal (mouton) anti CK-M humain suffisant pour inhiber jusqu'à 2 000 U/L de CK-MM		
R 2	ADP	15,2 mmol/L
	AMP	25 mmol/L
	di-Adénosine-5 pentaphosphate	103 mmol/L
	Glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6F-DH)	≥8 800 U/L
	Phosphocréatine	250 mmol/L

En option

CK-NAC / CK-MB CONTROL	Sérum humain lyophilisé	Réf : 1002260
------------------------	-------------------------	---------------

PRÉCAUTIONS

R1 : H360-Peut nuire à la fertilité ou au fœtus. Contient : imidazole (C3H4N2).

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PRÉPARATION

Réactif de travail (RT) : Mélanger 4 volumes de réactif 1 avec un volume de réactif 2.

Stabilité : 7 jours à 2-8°C ou 12 heures à température ambiante (20-25°C).

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du flacon, lorsque les flacons sont maintenus bien fermés à 2-8 °C, protégés de la lumière et en évitant leur contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en-dehors de la date indiquée.

Indicateurs de détérioration des réactifs :

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du Blanc à 340 ≥ 1,2.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 340 nm.
- Bain thermostatable à 25 °C, 30 °C ou 37 °C (±0,1 °C)
- Cuvettes de 1,0 cm de passage de lumière
- Équipement habituel de laboratoire.

ÉCHANTILLONS

Sérum exempt d'hémolyse ou plasma hépariné. Stabilité : 7 jours à 2-8 °C, protégé de la lumière.

L'activité de la CK-MB dans le sérum diminue de 10 % après 24 heures à 4 °C ou après 1 heure à 25 °C.

PROCÉDURE

- Conditions d'essai :
Longueur d'onde : 340 nm
Cuvette : 1 cm passage de lumière
Température constante. 25 °C / 30 °C / 37 °C
- Ajuster le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée ou l'air.
- Pipeter dans une cuvette :

RT (mL)	1,0
Échantillon (µL)	40
- Mélanger et incuber durant 10 minutes.
- Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre le chronomètre en marche et lire de nouveau l'absorbance au bout de 5 minutes (A₂).
- Calculer la différence d'absorbances : A = A₂ - A₁.

CALCULS

$$\Delta A \times 825 = \text{U/L de CK-B} \quad \Delta A \times 1651 = \text{U/L de CK-MB}$$

Le facteur de calcul dans des analyseurs automatiques ($\Delta A/\text{min}$) est de 8255 de CK-MB.

Unités: L'unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui convertit 1 µmol de substrat par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unités par litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent être transformés dans d'autres températures en multipliant par :

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,53	2,38
30 °C	0,65	1,00	1,56
37 °C	0,42	0,64	1,00

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'utiliser des contrôles de sérums spécifiques CK-NAC/ CK-MB (Réf.1002260).

Si les valeurs obtenues sont en-dehors de la plage de tolérance, l'instrument, les réactifs et la technique devront être vérifiés.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre Contrôle de Qualité et établir des corrections en cas de non conformité en termes de tolérances des contrôles.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les soupçons de lésion myocardique reposent sur les trois conditions suivantes :

	25 °C	30 °C	37 °C
CK-MB	> 10 U/L	> 15 U/L	> 24 U/L
CKTOTAL	25 °C	30 °C	37 °C
Hommes, jusqu'à	80 U/L	130 U/L	195 U/L
Femmes, jusqu'à	70 U/L	110 U/L	170 U/L

Actividad de la CK - MB

$$\text{Actividad de la CK Total} \times 100 = 6 - 25\% \text{ de actividad de la CK - MB}$$

Ces valeurs sont données à titre d'information. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Plage de mesure : Depuis la limite de détection de 1,9U/L jusqu'à la limite de linéarité de 1000 U / L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/1 avec du NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision :

	Intra-série		Inter-série	
	Moyenne (U/L)	SD	CV (%)	
	33,7	1,00	2,96	31,3
	166,5	3,76	2,26	161,0
				1,19
				3,47
				3,81
				2,15

Sensibilité analytique : 1U/L= 0,000134 (A).

Exactitude : Les réactifs SPINREACT (y) n'ont pas montré de différences systématiques significatives par rapport aux autres réactifs commerciaux (x).

Coefficient de corrélation (r)²: 0,999.

Équation de la droite de régression : y = 0,976x - 0,269.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

Bilirubine (mélange d'isomères): Moins de 10% d'interférence jusqu'à 600 µmol/L Bilirubine.

Hémolysis: Moins de 10% d'interférence jusqu'à 1,25 g/L d'Hémoglobine.

Lipémie: Moins de 10% d'interférence jusqu'à 2,5 g/L Intralipide.

Différentes drogues ont été définies ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de la CK-MB^{3,4}.

LIMITATIONS DE LA MÉTHODE

Cette méthode mesurera également l'activité de l'isoenzyme CK-BB présente dans le sérum, bien qu'elle soit, en général, insignifiante. Néanmoins, en cas de présence importante de CK-BB, l'activité de la CK-MB présente serait surestimée.

Si l'activité CK-B obtenue est supérieure à 20 % de l'activité de la CK totale, il faut suspecter la présence de macro BB (complexe d'immunoglobuline), mesurée comme B lors de l'essai.

REMARQUES

SPINREACT dispose d'instructions détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-116.
- Gerhardt W. et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.
- Mathieu M. et coll. Recommandation pour la mesure de la concentration catalytique de la créatine kinase dans le sérum humain. Ann. Biol. Clin., 40, (1482), 87.
- Neumeier, D., Prellwitz, W., Würzburg, U. et coll. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity. Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarction. Clin. Chim. Acta, 73, (1976), 445.

PRÉSENTATION

Réf : 41254	Cont.	R1 : 1 x 60 mL
		R2 : 1 x 15 mL

CK-MB-LQ (Creatinina quinase – MB)

Anti CK-M. Imunoinibição. Cinético UV. Líquido

Determinação quantitativa de creatinina quinase-MB (CK-MB)

IVD

Conservar a 2-8 °C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Método baseado na medição da atividade da CK na presença do anticorpo anti CK-M, que inibe completamente a atividade da CK-MM e a subunidade (M) da CK-MB, não afetando a atividade da CK-B e da CK-BB. Através do método da CK, determina-se a atividade da CK-B na amostra testada². A atividade da CK-MB obtém-se multiplicando a atividade da CK-B por dois.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A CK-MB é uma enzima constituída por duas subunidades, a subunidade M expressa ao nível muscular e a subunidade B, expressa nas células nervosas. As concentrações séricas de CK-MB são baixas e, aumentam como consequência de um enfarte de miocárdio e, em seguida diminuem para níveis normais. Podem aumentar, mais raramente, devido a traumatismos do músculo esquelético^{5,6,7,8}. O diagnóstico clínico deve ser realizado tendo em consideração todos os dados clínicos e laboratoriais.

REAGENTES

R 1	Imidazol pH 6.7	125 mmol/L
	D-Glicose	25 mmol/L
	N-acetil-l-cisteína	25 mmol/L
	Acetato de magnésio	12.5 mmol/L
	NADP	2,52 mmol/L
	EDTA	2,02 mmol/L
	Hexoquinase	≥ 6 800 U/L
Anticorpo policlonal (ovelha) anti CK-M humano suficiente para inibir até 2 000 U/L de CK-MM		
R 2	ADP	15,2 mmol/L
	AMP	25 mmol/L
	di-adenosina-5-pentafosfato	103 mmol/L
	Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD)	≥ 8 800 U/L
	Fosfato de creatina	250 mmol/L

Opcional

CONTROLO CK-NAC / CK-MB	Soro humano liofilizado	Ref: 1002260
--------------------------------	-------------------------	--------------

PRECAUÇÕES

R1: H360-Pode prejudicar a fertilidade ou o feto. Contém: Imidazole (C3H4N2). Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

PREPARAÇÃO

Reagente de trabalho (RT): Misturar 4 volumes de reagente 1 com um volume de reagente 2.

Estabilidade: 7 dias a 2-8 °C ou 12 horas à temperatura ambiente (20-25 °C).

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do frasco quando os frascos são mantidos bem fechados a 2-8 °C, protegidos da luz e se evita a contaminação durante a sua utilização.

Não utilizar reagentes que tenham excedido a data de validade indicada.

Indicadores de degradação dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvância (A) do Branco a 340 ≥ 1,2.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 340nm.
- Banho termostático a 25 °C, 30 °C ou 37 °C (± 0,1 °C)
- Cuvetes de 1,0 cm caminho de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro livre de hemólise ou plasma heparinizado. Estabilidade: 7 dias a 2 - 8 °C, protegida da luz.

A atividade da CK-MB no soro diminui aproximadamente 10% em 24 horas a 4 °C ou em 1 hora a 25 °C.

PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:
Comprimento de onda:340 nm
Cuvete:caminho de luz de 1 cm
Temperatura constante 25 °C /30 °C / 37 °C
- Ajustar o o espectrofotómetro a zero com água destilada ou ar.
- Pipetar numa cuvette:

RT (mL)	1,0
Amostra (µL)	40
- Misturar e incubar 10 minutos.
- Ler a absorvância (A) inicial da amostra, iniciar o cronómetro e ler novamente a absorvância aos 5 minutos (A₂).
- Calcular a diferença de absorvâncias: ΔA= A₂ – A₁.

CÁLCULOS

$$\Delta A \times 825 = \text{U/L de CK-B} \quad \Delta A \times 1651 = \text{U/L de CK-MB}$$

O fator de cálculo em analisadores automáticos por método cinético (ΔA/ min) é 8255.

Unidades: A unidade internacional (UI) é a quantidade de enzima que converte 1 µmol de substrato por minuto, em condições padrão. A concentração expressa-se em unidades por litro (U/L).

Fatores de conversão de temperaturas

Os resultados podem ser transformados para outras temperaturas, multiplicando por:

Temperatura de medição	Fator de conversão para		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,53	2,38
30 °C	0,65	1,00	1,56
37 °C	0,42	0,64	1,00

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente utilizar o controlo de soro específico CK-NAC/ CK-MB (Ref.1002260). Se os valores detetados se encontrarem fora do intervalo de tolerância, deve-se rever o instrumento, os reagentes e a técnica. Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA

A suspeita de lesão do miocárdio baseia-se nas três condições seguintes:

	25 °C	30 °C	37 °C
CK-MB	> 10 U/L	> 15 U/L	> 24 U/L
CKTOTAL	25 °C	30 °C	37 °C
Homens, até	80 U/L	130 U/L	195 U/L
Mulheres, até	70 U/L	110 U/L	170 U/L

$$\frac{\text{Atividade da CK - MB}}{\text{Atividade da CK Total}} \times 100 = 6 - 25\% \text{ de atividade de CK - MB na amostra}$$

Estes valores são indicativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medição: Desde o *limite de deteção* de 1,9 U/L até ao *limite de linearidade* de 1000 U/L.

Se a concentração da amostra for superior ao *limite de linearidade*, diluir 1/1 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 2

Precisão:

Média (U/L)	Intrasérie		Intersérie	
	33,7	166,5	31,3	161,0
SD	1,00	3,76	1,19	3,47
CV (%)	2,96	2,26	3,81	2,15

Sensibilidade analítica: 1 U/L = 0,000134 (A).

Exatidão: Os reagentes da SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

Coefficiente de regressão (r)²: 0,999.

Equação da reta de regressão: y = 0,976 x - 0,269.

As características do método podem variar de acordo com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Bilirrubina (mistura de isómeros): interferência inferior a 10% até 600 µmol/ l de Bilirrubina.

Hemólise: interferência inferior a 10% até 1,25 g/ l de Hemoglobina.

Lipémia: interferência inferior a 10% até 2,5 g/ l de intralípidos.

Foram descritos vários fármacos e outras substâncias que interferem na determinação de CK-MB^{3,4}.

LIMITAÇÕES DO MÉTODO

Este método também medirá a atividade de isoenzima CK-BB que está presente no soro, embora em quantidade não significativa. Na presença de uma quantidade significativa de CK-BB, a atividade da CK-MB presente seria sobrestimada.

Se a atividade da CK-B obtida exceder em 20% a atividade da CK total, deve suspeitar-se da presença de macro BB (complexo de imunoglobulina), medida como B no teste.

NOTAS

A SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores

BIBLIOGRAFIA

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-1116.
- Gerhardt W. et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.
- Mathieu M. et coll. Recommendation pour la mesure de la concentration catalytique de la créatinine kinase dans la sérum humain. Ann. Biol. Clin.,40, (1482), 87.
- Neumeier, D., Prellwitz, W., Würzburg, U. et coll. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity. Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarction, Clin. Chim. Acta, 73, (1976), 445.

APRESENTAÇÃO

Ref: 41254	Cont.	R1:1 x 60 mL
		R2:1 x 15 mL