

Creatine kinase - MB

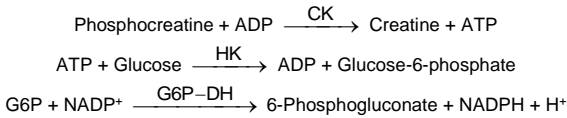
Immuno-inhibition. Kinetic UV

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

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

An antibody to the anti CK-M inhibits completely CK-MM and subunit (M) of the CK-MB. The activity of the non-inhibited CK-B subunit is then assayed by the following series of reactions:



The rate of NADPH formation, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of CK-B present in the sample^{1,2}.

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 increases after an acute infarct of myocardium and later descends at normal levels. Also is increased, rarely, in skeletal muscle damage^{5,6}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1 Buffer	Imidazol pH 6.7	100 mmol/L
	Glucose	20 mmol/L
	Magnesium acetate	10 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
R 2 Anti CK-M	*Anti CK-M	2000 U/L
	ADP	2 mmol/L
	AMP	5 mmol/L
	di-Adenosine-5- pentaphosphate	10 mmol/L
	NADP ⁺	2 mmol/L
	Hexoquinase (HK)	2500 U/L
	Glucosa-6-phosphate deshydrogenase	1500 U/L
N-acetylcysteine	20 mmol/L	
	Creatinine phosphate	30 mmol/L

*Anti CK-M sufficient to inhibit up to 2000 U/L of CK-MM.

Optional

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

PRECAUTIONS

R1: H360- May damage fertility or the unborn child.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.
CK-Nac / CK-MB CONTROL, Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

PREPARATION

- Working reagent (WR)
Dissolve (→) one tablet of R2 in one vial of R1.
Cap vial and mix gently to dissolve contents.
Stability: 8 days at 2-8°C or 24 hours at 15-25°C.
- CK-Nac / CK-MB CONTROL
Dissolve (→) the contents in 2 mL of distilled water.
Cap vial and mix gently to dissolve contents.
Stability: 5 days at 2-8°C or 4 weeks at -25°C to -15°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 the tablets if appears broken. Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm ≥ 1,60.

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 or plasma¹: 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. Incubate for 10 minute.
- 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

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

Calculating factor in automatic analyzers by kinetic method (ΔA/min.) is 8255 of CK-MB. **Units:** One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 µmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Percentage of CK-MB activity in sample:

$$\frac{\text{CK-MB Activity}}{\text{CK Total Activity}} \times 100 = \% \text{ CK-MB Activity}$$

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 sera controls (Ref. 1002260) are 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

Heart infarct probability is high at the following conditions:

25°C	30°C	37°C
------	------	------

CK-MB > 10 U/L > 15 U/L > 24 U/L

CK-MB activity is between 6 and 25% of total CK activity.

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

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: Detection limit: 3,11 U/L.

Linearity: The total CK activity must be determined by the CK-NAC activated method prior to the CK-MB assay. If the CK activity exceeds 1000 U/L, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

Mean (U/L)	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	54,2	138,3	55,7	141,6
SD	1,45	1,33	1,62	1,39
CV (%)	2,67	0,96	2,92	0,98

Sensitivity: 1 U/L = 0,00029 ΔA / min.

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

The results obtained using 50 samples were the following:

Regression coefficient (r)²: 0,996.

Equation of the regression line: y = 0,9919x - 0,1042.

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

INTERFERENCES

Hemolysis interferes with the assay².

A list of drugs and other interfering substances with CK-MB determination has been reported by Young et. al^{3,4}.

NOTES

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.

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.

PACKAGING

Ref: 1001054	Cont.	R1: 6 x 2,5 mL, R2: 6 → 2,5 mL
Ref: 1001055		R1: 19 x 2,5 mL, R2: 19 → 2,5 mL, CONTROL:1 x 2 mL



Creatina quinasa - MB

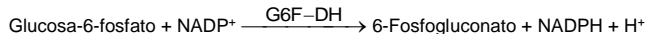
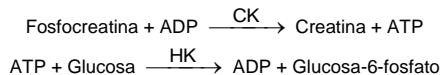
Inmunoinhibición. Cinético UV

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

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El anticuerpo anti CK-M inhibe completamente la actividad de la CK-MM y la subunidad (M) de la CK-MB. La actividad de la CK-B no inhibida se determina según las siguientes reacciones:



La velocidad de formación de NADPH, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de CK-B en la muestra ensayada^{1,2}.

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}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	Imidazol pH 6,7	100 mmol/L
	Glucosa	20 mmol/L
	Acetato de magnesio	10 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
R 2 Anti CK-M	*Anti CK-M	2000 U/L
	ADP	2 mmol/L
	AMP	5 mmol/L
	di-Adenosina-5- pentaosfato	10 mmol/L
	NADP ⁺	2 mmol/L
	Hexoquinasa (HK)	2500 U/L
	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH)	1500 U/L
	N-acetilcisteína	20 mmol/L
Fosfato de creatina	30 mmol/L	

*Anti CK-M suficiente para inhibir hasta 2000 U/L de CK – MM

Opcional

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

PRECAUCIONES

R1: H360-Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

CK-NAC / CK-MB CONTROL

Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

PREPARACIÓN

- Reactivo de trabajo (RT)
 - Disolver (→) un comprimido de R2 en un vial de R1.
 - Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.
 - Estabilidad: 8 días a 2-8°C o 24 horas a 15-25°C.
- CK-Nac / CK-MB CONTROL
 - Reconstituir (→) el contenido de un vial con 2 mL de agua destilada.
 - Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.
 - Estabilidad: 5 días a 2-8°C o 4 semanas a -25°C – -15°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 las tabletas si aparecen fragmentadas. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 340nm \geq 1,6.

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

Suero o plasma¹. 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

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 340nm

- 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

- Mezclar. Incubar 10 minutos.
- Leer la absorbancia (A₁) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia de nuevo a los 5 minutos (A₂).
- Calcular la diferencia de absorbancias: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CÁLCULOS

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

El factor de cálculo en analizadores automáticos por método cinético ($\Delta A/\text{min}$) es 8255 de CK-MB.

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).

Porcentaje de actividad de la CK-MB:

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

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 controles de sueros específicos 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 probabilidad de un infarto de miocardio es elevada en las siguientes condiciones:

CK-MB	25°C	30°C	37°C
	> 10 U/L	> 15 U/L	> 24 U/L

La actividad de la CK-MB se encuentra entre 6 y 25% de la actividad total de la CK. Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Límite de detección: 3,11 U/L.

Linealidad: Antes de efectuar la determinación de CK-MB, se determinará la actividad de CK Total mediante el método CK-NAC activado. Si la actividad de CK es superior a 1000 U/L, las muestras, para la determinación de CK-MB, deberán diluirse a 1:2 con NaCl al 0.9 % y multiplicar el resultado calculado por 2.

Precisión:

Media (U/L)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	54,2	138,3	55,7	141,6
SD	1,45	1,33	1,62	1,39
CV (%)	2,67	0,96	2,92	0,98

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00029 ΔA / min.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,996.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,9919x - 0,1042$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Las muestras extremadamente hemolizadas interfieren en el ensayo². Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la CK-MB^{3,4}.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- 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.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001054	Cont.	R1: 6 x 2,5 mL, R2: 6 → 2,5 mL
Ref: 1001055		R1: 19 x 2,5 mL, R2: 19 → 2,5 mL, CONTROL: 1 x 2 mL