

## Utilisation

Pour la détermination quantitative de la créatine kinase-MB dans le sérum pour les procédures manuelles et/ou automatisées. Réservé à un usage médical.

## Résumé et principe

Les créatines kinases sont des molécules dimériques composées des sous-unités M et B et existent sous forme d'iso-enzymes MM, MB et BB.<sup>1</sup> Les sous-unités M et B sont immunologiquement distinctes. La CK-MM et la CK-MB sont distribuées principalement dans le muscle squelettique et le muscle cardiaque, respectivement, tandis que la CK-BB est présente principalement dans le cerveau et dans les tissus composés de muscles lisses.<sup>2</sup>

Après un infarctus aigu du myocarde, l'activité de la CK-MB augmente de manière significative et cette élévation est hautement spécifique pour le diagnostic en laboratoire de l'infarctus du myocarde.<sup>3,4</sup> Bien que l'activité totale de la CK augmente généralement après un infarctus du myocarde, chez certains patients, seule l'activité de la CK-MB augmente, alors que la CK totale reste dans la fourchette normale.<sup>5</sup>

Cette méthode est un test UV optimisé conformément à la DGKC (Société allemande de chimie clinique) et à l'IFCC (Fédération internationale de chimie clinique et de médecine de laboratoire).

Dans cette procédure, l'activité de la CK est mesurée en présence d'un anticorps dirigé contre le monomère de la CK-M. Cet anticorps inhibe complètement l'activité de la CK. Cet anticorps inhibe complètement l'activité de la CK-MM et la moitié de l'activité de la CK-MB, sans affecter l'activité de la sous-unité B de la CK-MB et de la CK-BB. En raison des concentrations négligeables de CK-BB dans la circulation, l'activité restante, multipliée par un facteur de 2, représente l'activité de l'iso-enzyme CK-MB.

## Réactifs

### CK-MB (réactif R1)

Composition :

|   |             |
|---|-------------|
| Glucose                                   | 20.0 mmol/L |
| Acétate de magnésium                      | 10.0 mmol/L |
| EDTA                                      | 2.0 mmol/L  |
| Hexokinase                                | 5.0 kU/L    |
| LDH                                       | 1.5 kU/L    |
| NAC                                       | 20.0 mmol/L |
| NADP                                      | 2.0 mmol/L  |
| Tampon d'Imidazole                        | 50.0 mmol/L |
| Anticorps monoclonaux (souris) vs l'homme |             |
| CK-M, capacité d'inhibition               | > 2000 U/L  |

### CK-MB (réactif R2)

Composition:

|                            |              |
|----------------------------|--------------|
| ADP                        | 10.0 mmol/L  |
| AMP                        | 20.0 mmol/L  |
| Diadénosine pentaphosphate | 50.0 µmol/L  |
| Phosphate de créatine      | 150.0 mmol/L |
| G6P-DH                     | 20 kU/L      |
| Tampon d'Imidazole         | 50.0 mmol/L  |

## Précautions

*Pour le diagnostic in vitro*

Les précautions habituelles prises lors de la manipulation des réactifs de laboratoire doivent être respectées. Ne pas pipeter par la bouche. Les réactifs contiennent de l'azide de sodium qui peut être toxique en cas d'ingestion. L'azoture de sodium peut également réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des azides métalliques hautement explosifs. Se référer à la fiche de données de sécurité pour toute information mise à jour sur les risques, les dangers ou la sécurité. Éliminer les réactifs usagés ou périmés conformément aux exigences de votre laboratoire et aux exigences gouvernementales.

## Préparation des réactifs :

Les réactifs liquides R1 et R2 sont fournis prêts à l'emploi pour les analyseurs capables de distribuer 2 réactifs distincts. Pour les analyseurs qui ne sont pas capables de distribuer 2 réactifs ou pour une utilisation manuelle, préparer un réactif de travail dans un rapport de 4 parties de réactif R1 pour 1 partie de réactif R2 (c'est-à-dire 24 mL de réactif R1 et 6 mL de réactif R2).

## Stockage et stabilité des réactifs :

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur leurs étiquettes respectives, s'ils sont correctement conservés à 2-8°C et à l'abri de la lumière. Les réactifs R1 et R2 doivent être clairs/incolores. Jeter si l'un ou l'autre est trouble ou contient des particules. Une fois préparé et protégé de la lumière, le réactif de travail est stable pendant 2 semaines à 2-8°C ou 24 heures à 15-30°C.

## Collecte et stockage des échantillons :

Tous les échantillons utilisés dans ce test doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Les précautions universelles qui s'appliquent à votre établissement doivent être appliquées pour la manipulation et l'élimination du matériel pendant et après le test. Le sérum clair non hémolysé est l'échantillon de choix. Aucun additif ou conservateur spécial n'est nécessaire. Dans la mesure du possible, les échantillons doivent être séparés et analysés le jour du prélèvement. Conserver le sérum dans des tubes bouchés. L'activité de la CK-MB dans le sérum est stable pendant 4 semaines, lorsqu'elle est conservée à l'abri de la lumière à -20°C. La conservation à d'autres températures entraîne une perte d'activité ; après 24 heures à 2-8°C, < 10 % ; après une heure à 15-30°C, < 10 %. Les échantillons extrêmement hémolysés ne conviennent pas au test car ils peuvent contenir des niveaux élevés d'adénylate kinase, d'ATP et de glucose-6-phosphate, qui interfèrent avec le test et donnent des résultats erronés.

## Substances interférentes

L'acide ascorbique jusqu'à 30 mg/dL, la bilirubine conjuguée jusqu'à 24 mg/dL, la bilirubine non conjuguée jusqu'à 30 mg/dL et les triglycérides jusqu'à 1000 mg/dL ne présentent aucune interférence dans ce test. L'hémoglobine interfère, même à des concentrations minimes (25 mg/dL).<sup>8</sup> Young et al<sup>6</sup> ont examiné les effets des médicaments sur les taux sériques de CK-MB. La procédure décrite peut surestimer les valeurs de CK-MB si l'activité de la CK-BB dans le sérum est très élevée. Cependant, l'activité CK-BB est généralement absente dans le sérum des individus normaux et des patients souffrant d'infarctus du myocarde.<sup>9</sup> Certains chercheurs ont observé une macro-forme de BB (complexe d'immunoglobulines), qui peut être mesurée comme B dans ce test.<sup>10,11,12</sup> La présence de macro-BB dans l'échantillon doit être suspectée si l'activité CK-BB mesurée par cette procédure représente plus de 20 % de l'activité CK totale.

## Matériels fournis

Réactifs CK-MB R1 et R2.

## Matériel requis mais non fournis

Spectrophotomètre capable de lire l'absorbance à 340 nm et 1 cm de trajet optique, bloc ou bain à température constante, 37°C, ou cuvette à température contrôlée. Dispositifs de pipetage précis, tubes à essai, minuterie à intervalle.

## Procédure automatisée

Les applications pour les analyseurs automatisés sont disponibles en contactant HORIBA Instruments Inc. Service d'assistance technique.

## Procédure manuelle

1. Laisser les réactifs et les échantillons s'équilibrer à la température ambiante avant de les utiliser.
2. Préparer le réactif de travail CK-MB conformément aux instructions (voir la section Préparation des réactifs).
3. Mettre le spectrophotomètre à zéro à 340 nm avec de l'eau distillée.
4. Pour chaque échantillon et contrôle, ajouter 1,0 ml de réactif de travail à la cuvette ou au tube à essai et incubé à 37 °C pendant 4 minutes.
5. Ajouter 40 µl de sérum dans le tube correspondant et mélanger délicatement.
6. Lire et enregistrer l'absorbance après 5 minutes. Poursuivre l'incubation à 37°C et enregistrer à nouveau l'absorbance après 6, 7, 8 et 9 minutes. Le taux doit être constant.
7. Déterminer l'absorbance moyenne par minute (UA/min), multiplier par le facteur 8360 (4180 x 2) pour obtenir des résultats en U/L.

# Pointe Créatine Kinase – MB (CK – MB) Kit réactif

**NOTE:** Si la cuvette n'est pas à température contrôlée, incuber les échantillons à 37°C entre les lectures.

## Calibration

La calibration n'est pas nécessaire. Si le calibrage est exigé par le fabricant de l'instrument, suivez les directives de calibrage pour calibrer votre analyseur.

## Contrôle qualité

HORIBA Medical recommande l'utilisation de contrôles disponibles dans le commerce avec des valeurs de CK-MB dosées par cette méthode pour vérifier l'exactitude et la précision. Les contrôles contenant des fractions de CK-MB non humaines ne sont pas adaptés à ce test en raison de l'anticorps monoclonal utilisé dans le réactif. Utiliser des contrôles contenant exclusivement de la CK-MB humaine. L'activité de la CK-MB déterminée dans ces échantillons, par cette procédure, doit se situer dans les fourchettes des contrôles. Deux niveaux (normal/anormal) de contrôles doivent être analysés chaque jour de test.

## Résultats

Activité CK-B : les valeurs sont dérivées du coefficient d'extinction micromolaire de l'absorptivité du NADP à 340 nm (0,00622). Une unité par litre (U/L) d'activité de la CK-B est la quantité d'enzyme qui oxyde un  $\mu\text{mol/L}$  de NADP par minute.

$$\text{Activité de la CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{\text{Absorptivité Volume d'échantillon (mL)}} \times \text{Total Volume (mL)}$$

$$\text{Activité de la CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0.00622} \times \frac{1.040}{0.040}$$

$$\text{Activité de la CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0.00622} \times 4180$$

$$\text{Activité de la CK-MB U/L} = \text{Activité CK-B (U/L)} \times 2$$

$$\% \text{ d'activité de la CK-MB} = \frac{\text{Activité CK-MB (U/L)} \times 100}{\text{Activité Totale CK (U/L)}}$$

## Limites

Si le  $\Delta A/\text{min}$ . est supérieur à 0,345, diluer 1 volume de l'échantillon avec 9 volumes de solution saline et refaire le dosage. Multiplier les résultats par 10. Les valeurs de CK pour les patients néonataux n'ont pas été établies avec cette procédure.

## Valeurs attendues <sup>7</sup>

<24 U/L (37°C) ; l'activité de la CK-MB est comprise entre 6 et 25 % de l'activité totale de la CK.

Cette fourchette ne doit servir que de ligne directrice. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fourchette de valeurs attendues, car il existe des différences entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

## Caractéristiques des performances <sup>8</sup>

Comparaison : un groupe de 90 sérums a été dosé par la méthode CK-MB décrite et par un réactif CK-MB similaire disponible dans le commerce. La comparaison des résultats a donné un coefficient de corrélation de 1,00 et l'équation de régression était  $y = 1,00x + 2,08$ . Les études comparatives ont été réalisées conformément à la directive provisoire EP9-T du NCCLS.

**Précision :** la précision à l'intérieur d'une série a été établie par 20 essais sur trois niveaux différents de contrôles commerciaux. Les valeurs de précision totale ont été obtenues en testant 3 contrôles commerciaux pendant 5 jours consécutifs.

### En cours d'exécution

|                  | Sérum 1 | Sérum 2 | Sérum 3 |
|------------------|---------|---------|---------|
| Moy. CK-MB (U/L) | 26.7    | 46.6    | 106     |
| Ecart Std.       | 0.70    | 0.85    | 1.03    |
| CV (%)           | 2.6     | 1.8     | 1.0     |

### Précision totale

|                  | Sérum 1 | Sérum 2 | Sérum 3 |
|------------------|---------|---------|---------|
| Moy. CK-MB (U/L) | 28.2    | 52.7    | 109     |
| Ecart Std.       | 1.05    | 1.66    | 2.32    |

CV (%) 3.7 3.2 2.1

Les études de précision ont été réalisées conformément à la ligne directrice provisoire du NCCLS, EP5-T.

**Linéarité :** linéaire jusqu'à 175 U/L à 37°C. Effectué conformément à la directive EP6-P du NCCLS.

**Sensibilité :** sur la base d'une résolution de l'instrument de  $A=0,001$ , la méthode présentée montre une sensibilité de 2,0 U/L.

## Références

- Dawson, DM et al., Biochem Biophys. Res. Comm 21: 346 (1965)
- Neumeir, D: Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme, Lang, Editor, Springer Verlag, New York, 1981, 85-109
- Wagner et al, Circulation 47 263 (1973)
- Bais R., Crit. Rev. Clin. Lab Sci. 18 291 (1982)
- D'Souza JP et al, Clin. Biochem. 11 204 (1978)
- Young DS et al. Clin Chem 21 286D, 1975 (Special Edition)
- Stein W. Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985;36:572-7.
- Manufacturer Laboratory Data.
- Kaehmar, J.F. and Moss, D.W.: Fundamentals of Clinical Chemistry. Tiertz N.W. ed. Saunders, W.B. Co., Philadelphia, 686 (1976).
- Lott J.A., Clin. Lab Med. 6:547 (1986).
- Ljungdahl I., Gerhardt W., "Creatine kinase isoenzyme variants in human serum." Clin Chem 24:832, (1978).
- Urdal P, Landaas S: "Macro-creatine kinase BB in serum, and some data on its prevalence", Clin Chem 25:461, (1979).

## Symboles clés

|   |   |
|---|---|
| Use by (YYYY-MM-DD)                           | <b>LOT</b> Lot and batch code                                     |
| <b>REF</b> Catalog number                     | <b>Manufacturer</b>   |
| <b>IVD</b> In vitro diagnostic medical device | <b>Temperature limitation</b>                                     |
| Consult instructions for use                  | <b>Rx Only: Prescription Use Only</b>                             |
| <b>CE</b> CE mark                             | <b>EC REP</b> Authorized representative in the European Community |

**REF** C7563 Fabriqué pour HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188 2°C - 8°C **IVD**

|  |           |
|--|-----------|
| Fabriqué pour HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand<br>5449 Research Drive, Canton, MI 48188  | <b>CE</b> |
| <b>EC REP</b> Obelis s.a.<br>Boulevard Général Wahis 53<br>1030 Brussels, BELGIUM<br>Tel: (32)2.732.59.54, Fax:(32)2.732.60.03<br>email: mail@obelis.net |           |

## Certifié pour l'utilisation des réactifs

Les réactifs Pointe sont certifiés comme étant fabriqués selon les paramètres spécifiés. Tout produit réactif Pointe non conforme aux spécifications jusqu'à sa date de péremption sera remplacé immédiatement et sans frais.

Rev. 06/23 P803-C7563-01-FR