

Utilizarea prevăzută

Pentru determinarea cantitativă a activității creatinkinazei-MB în ser pentru proceduri manuale și/sau automate. **Rx Only.**

Rezumat și principii

Creatinkinaza reprezintă molecule dimerice compuse din subunități M și B și există sub forma izoenzimelor MM, MB și BB.¹ Subunitățile M și B sunt distincte din punct de vedere imunologic. CK-MM și CK-MB sunt distribuite în principal în mușchiul scheletic și, respectiv, în mușchiul inimii, în timp ce CK-BB este prezentă în principal în creier și în țesuturile compuse din mușchi netezi.²

În urma infarctului miocardic acut, activitatea CK-MB crește semnificativ și această creștere este foarte specifică pentru diagnosticul de laborator al infarctului miocardic.^{3,4} Deși activitatea CK totală crește de obicei în urma infarctului miocardic, la unii pacienți crește doar activitatea CK-MB, în timp ce CK totală rămâne în intervalul normal.⁵

Această metodă este un test UV optimizat conform DGKC (Societatea Germană de Chimie Clinică) și IFCC (Federația Internațională de Chimie Clinică și Medicină de Laborator).

În această procedură, activitatea CK este măsurată în prezența unui anticorp împotriva monomerului CK-M. Acest anticorp inhibă complet activitatea CK-MM și jumătate din activitatea CK-MB, dar nu afectează activitatea subunității B a CK-MB și CK-BB. Datorită concentrațiilor neglijabile de CK-BB în circulație, activitatea rămasă, înmulțită cu un factor de 2, reprezintă activitatea izoenzimei CK-MB.

Reactivii

CK-MB (Reactiv R1)

Compoziție:

Glucoză	20,0 mmol/L
Acetat de magneziu	10,0 mmol/L
EDTA	2,0 mmol/L
Hexokinază	5,0 kU/L
LDH	1,5 kU/L
NAC	20,0 mmol/L
NADP	2,0 mmol/L
Soluție tampon de imidazol	50,0 mmol/L
Anticorpi monoclonali (șoarece) împotriva CK-M umane, capacitate de inhibare > 2000 U/L	

CK-MB (Reactiv R2)

Compoziție:

ADP	10,0 mmol/L
AMP	20,0 mmol/L
Diadenozină pentafofat	50,0 μmol/L
Creatină fosfat	150,0 mmol/L
G6P-DH	20 kU/L
Soluție tampon de imidazol	50,0 mmol/L

Precauții

Pentru diagnostic in vitro

Trebuie respectate precauțiile normale pentru manipularea reactivilor de laborator. Nu îl aspirați cu pipeta trăgând cu gura. Reactivii conțin azidă de sodiu, care poate fi toxică în caz de ingerare. Azida de sodiu poate reacționa cu cuprul sau plumbul, formând azide metalice foarte explozive. Consultați fișa cu date de securitate a materialului pentru orice informații actualizate cu privire la riscuri, pericole sau siguranță. Eliminați reactivii uzați sau expirați în conformitate cu cerințele de laborator și guvernamentale.

Prepararea reactivului: Reactivii lichizi R1 și R2 sunt furnizați gata de utilizare pentru analizoarele capabile de distribuirea a 2 reactivi separați. Pentru analizoarele care nu sunt capabile de distribuirea a 2 reactivi sau pentru utilizarea manuală, preparați un reactiv de lucru în proporția de 4 părți de reactiv R1 la 1 parte de reactiv R2 (de exemplu 24 mL reactiv R1 și 6 mL reactiv R2).

Depozitarea și stabilitatea reactivilor: Dacă sunt depozitați la 2-8°C și protejați de lumină, reactivii sunt stabili până la data de expirare de pe etichetă.

Reactivii R1 și R2 trebuie să fie transparenți/incolori. Aruncați produsul dacă are un aspect tulbure sau conține particule. După preparare și dacă este protejat de lumină, reactivul de lucru este stabil timp de 2 săptămâni la 2-8°C sau 24 ore la 15-30°C.

Recoltarea și depozitarea speciemenelor

Toate speciemenele utilizate în acest test trebuie considerate potențial infecțioase. Trebuie utilizate măsurile de precauție universale aplicate în unitatea dumneavoastră pentru manipularea și eliminarea materialelor în timpul testării și după testare. Serul transparent nehemolizat este speciemenul preferat. Nu sunt necesari aditivi sau conservanți speciali. Ori de câte ori este posibil, speciemenele trebuie separate și analizate în ziua recoltării. Depozitați serul în tuburi cu capac. Activitatea CK-MB în ser este raportată ca fiind stabilă timp de 4 săptămâni, atunci când este depozitată într-o zonă întunecată la -20°C. Depozitarea la alte temperaturi va duce la pierderea activității; după 24 ore la 2-8°C, < 10%; după o oră la 15-30°C, < 10%. Probele extrem de hemolizate nu sunt potrivite pentru test, deoarece pot conține niveluri ridicate de adenilatkinază, ATP și glucoză-6-fosfat, care interferează cu testul și produc rezultate false.

Substanțe interferente

Acidul ascorbic până la 30 mg/dL, nivelurile bilirubinei conjugate până la 24 mg/dL, nivelurile bilirubinei neconjugate până la 30 mg/dL și ale trigliceridelor până la 1000 mg/dL nu prezintă nicio interferență cu acest test. Hemoglobina interferează chiar și în concentrații minime (25 mg/dL).⁸ Young, et al.⁹ au verificat efectele medicamentelor asupra nivelurilor CK-MB serice. Procedura descrisă poate supraestima valorile CK-MB dacă activitatea CK-MB în ser este foarte ridicată. Cu toate acestea, activitatea CK-MB este de obicei absentă în serurile de la indivizi normali și de la pacienții cu infarct miocardic.⁹ Unii investigatori au observat o formă macro de BB (complex de imunoglobulină), care poate fi măsurat ca B în acest test.^{10,11,12} Prezența macro BB în speciemen trebuie suspectată dacă activitatea CK-B măsurată prin această procedură reprezintă mai mult de 20% din activitatea totală a CK.

Materiale furnizate

Reactivi CK-MB R1 și R2

Materiale necesare, dar nefurnizate

Spectrofotometru capabil să citească absorbanta la 340 nm și o cale luminoasă de 1 cm, bloc de temperatură constantă sau baie, 37°C sau cuvetă cu temperatură controlată, dispozitive de pipetare precise, eprubete, cronometru interval

Procedură automată

Aplicațiile pentru analizoarele automate sunt disponibile prin contactarea Departamentului de asistență tehnică al HORIBA Instruments Inc.

Procedură manuală

- Lăsați reactivii și speciemenele să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare.
- Preparați reactivul de lucru CL-MB conform instrucțiunilor (consultați secțiunea Prepararea reactivului).
- Setați spectrofotometrul la zero la 340 nm cu apă distilată.
- Pentru fiecare probă și soluție de control, adăugați 1,0 mL reactiv de lucru în cuvetă sau în tubul de testare și incubați la 37°C timp de 4 minute.
- Adăugați 40 μL de ser în tubul respectiv și amestecați ușor.
- Citiți și înregistrați absorbanta la 5 minute. Continuați incubarea la 37°C și citiți din nou absorbanta la 6, 7, 8 și 9 minute. Viteza trebuie să fie constantă.
- Determinați absorbanta medie pe minut (IA/min), înmulțind cu factorul 8360 (4180 x 2) pentru rezultate în U/L.

NOTĂ: În cazul în care cuvetă nu are temperatură controlată, incubați probele la 37°C între măsurări.

Calibrarea

Nu este necesară calibrarea. În cazul în care calibrarea este cerută de producătorul instrumentului, respectați instrucțiunile de calibrare pentru a vă calibra analizorul.

Controlul calității

HORIBA Medical recomandă utilizarea soluțiilor de control disponibile pe piață cu valori CK-MB testate prin această metodă pentru verificarea acurateței și preciziei.

(CK – MB) Set de reactivi - Creatine Kinase – MB Pointe

Soluțiile de control care conțin fracții CK-MB non-umane nu sunt potrivite pentru utilizarea cu acest test din cauza anticorpului monoclonal utilizat în reactiv. Utilizați soluții de control care conțin exclusiv CK-MB umană. Activitatea CK-MB determinată în aceste materiale prin această procedură ar trebui să se încadreze în intervalele soluțiilor de control. Două niveluri de soluții de control (normal/anormal) trebuie analizate în fiecare zi de testare.

Rezultate

Activitatea CK-B: Valorile sunt derivate pe baza coeficientului micromolar de extincție/absorbție al NADP la 340 nm (0,00622). O unitate pe litru (U/L) de activitate CK-B este acea cantitate de enzimă care oxidează un $\mu\text{mol/L}$ de NADP pe minut.

$$\text{Activitatea CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min} \times \text{Volum total (mL)}}{\text{Absorbție volum probă (mL)}}$$

$$\text{Activitatea CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min} \times 1,040}{0,00622 \quad 0,040}$$

$$\text{Activitatea CK-B U/L} = \Delta A/\text{Min} \times 4180$$

$$\text{Activitatea CK-B (U/L)} = \text{Activitatea CK-B (U/L)} \times 2$$

$$\text{Activitatea CK-MB \%} = \frac{\text{Activitatea CK-MB (U/L)} \times 100}{\text{Activitate CK totală (U/L)}}$$

Limitări

Dacă $\Delta A/\text{min}$ este mai mare de 0,345, diluați 1 parte de probă cu 9 părți de soluție salină și testați din nou. Înmulțiți rezultatul cu 10. Valorile CK pentru pacienții nou-născuți nu au fost stabilite pentru această procedură.

Valori așteptate⁷

<24 U/L (37°C); Activitatea CK-MB este între 6 și 25% din activitatea CK totală.

Acest interval trebuie utilizat doar orientativ. Recomandăm ca fiecare laborator să își stabilească propriul interval de valori așteptate, întrucât există diferențe între instrumente, laboratoare și populațiile locale.

Caracteristici de performanță⁸

Comparație: Un grup de 90 de seruri a fost testat prin metoda CK-MB descrisă și cu un reactiv CK-MB similar disponibil comercial. Compararea rezultatelor a dus la un coeficient de corelare de 1,00, iar ecuația de regresie a fost $y = 1,00x + 2,08$. Studiile comparative au fost efectuate conform liniilor directe ale NCCLS, EP9-T.

Precizie: Precizia în cadrul ciclului de procesare a fost stabilită prin 20 de teste cu trei niveluri diferite de soluții de control comerciale. Valorile preciziei totale au fost obținute prin testarea a 3 soluții de control comerciale timp de 5 zile consecutive.

adrul ciclului de procesare

	Ser 1	Ser 2	Ser 3
CK-MB medie (U/L)	26,7	46,6	106
Abaterea standard	0,70	0,85	1,03
CV (%)	2,6	1,8	1,0

Precizie totală

	Ser 1	Ser 2	Ser 3
CK-MB medie (U/L)	28,2	52,7	109
Abaterea standard	1,05	1,66	2,32
CV (%)	3,7	3,2	2,1

Studiile de precizie au fost efectuate conform liniilor directe ale NCCLS, EP5-T.










Linearitate: Liniar până la 175 U/L la 37°C. Efectuat conform ghidului NCCLS EP6-P.





Sensibilitate: Pe baza unei rezoluții a instrumentului A = 0,001, metoda prezentată are o sensibilitate de 2,0 U/L.




Referințe

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

Legendă simboluri

 A se utiliza până la (AAAA-LL-ZZ)	 Cod lot și serie
 Număr catalog	 Producător
 Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>	 Limită de temperatură
 Consultați instrucțiunile de utilizare	Rx Only: Numai pentru utilizare pe bază de prescripție medicală
 Marcaj CE	 Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană

 C7563	 Produs pentru HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188	 2°C - 8°C	
---	--	---	---

 Produs pentru HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188	
 Obelis s.a. Boulevard Général Wahis 53 1030 Bruxelles, BELGIA Tel: (32)2.732.59.54, Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net	

Certificat pentru efectuarea reactivilor

Reactivii Pointe sunt certificați ca fiind fabricați în conformitate cu parametrii specificați. Orice produs reactiv Pointe care nu îndeplinește specificațiile prin data de expirare indicată va fi remediat imediat fără niciun cost suplimentar..

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