

CREATINE KINASE - MB

REF 1121005

1 x 25 mL

CONTENU

Réactif R1. 1 x 20 mL

Réactif R2. 1 x 5 mL

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

CREATINE KINASE - MB

CK-MB INHIBEE

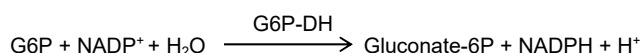
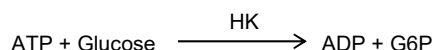
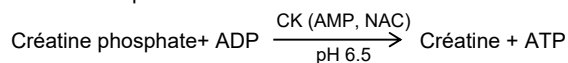
Méthode immunologique UV

CINETIQUE

PRINCIPE

L'activité majeure de la CK dans le sérum est due aux iso enzymes CK-MM et CK-MB, principalement retrouvées dans les muscles des os et du cœur. La CK-BB est habituellement présente à faible concentration dans le sérum.

Les deux enzymes de la créatine kinase sont des dimères formées par l'association de deux sous-unités du muscle (M) et des cellules nerveuses (B). L'immunoinhibition de l'anticorps spécifique des sous-unités MM de la CK-MM et de la sous-unité M de la CK-MB, permet la détermination de la sous-unité B. L'activité de la CK-B correspondant à la moitié de CK-MB est mesurée par l'augmentation de la variation d'absorbance résultant des réactions couplées suivantes.^{1,2}



Ce test a été formulé suivant la méthode standardisée décrite par IFCC. Clin Chem Lab Med 2002; 40(6) : 635-642.

COMPOSITION DES REACTIFS

R1 **Tampon/Glucose/NAC.** Tampon Imidazolé 100 mmol/L pH 6,7, glucose 20 mmol/L, NAC 20 mmol/L, acétate de magnésium 10 mmol/L, NADP 2,5 mmol/L, HK ≥ 4 KU/L, EDTA 2 mmol/L.

R2 **Substrat/Coenzymes.** CP 30 mmol/L, AMP 5 mmol/L, ADP 2 mmol/L, di(adenosine-5') penta phosphate 10 μ mol/L, G6P-DH $\geq 1,5$ KU/L.
Suffisant anticorps anti-CK-M humain inhibiteur ≥ 3000 U/L de CK-MM à 37°C.

CONSERVATION ET STABILITE

 Conserver à 2-8°C.

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date de péremption. Conserver les flacons hermétiquement fermés à l'abri de la lumière et éviter les contaminations pendant l'usage.

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration:

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Absorbance du blanc réactif (A) à 340 nm $> 0,400$ dans une cuve de 1 cm d'épaisseur.

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif de travail. Mélanger 4mL de réactif **R1** à 1 mL de réactif **R2**. Le réactif est stable 1 mois à 2-8°C, ou 5 jours à 20-25°C. Stocker le réactif de travail à l'abri de la lumière.

ECHANTILLONS

Sérum. Stable 8 jours à 2-8°C ou 1 mois à -20°C. Mettre les échantillons rapidement au frais après la collecte.

Les échantillons modérément ou sévèrement hémolysés ne sont pas admissibles à être testés, aussi bien que les plasmas contenant de l'EDTA, l'héparine, le citrate, ou du fluorure puisqu'ils peuvent entraîner réactions imprévisibles.

INTERFERENCES

- Lipides (intralipide >1 g/L) peuvent interférer sur les résultats.
- Bilirubine (< 20 mg/dL) n'interfère pas.
- Hémoglobine (>8 g/L) peut interférer sur les résultats.
- La présence supérieure à la normale des concentrations de CK-BB ou l'adénilatekinase, et de la CK macro ou mitochondriale peuvent interférer sur les résultats⁶.
- D'autres médicaments et substances peuvent interférer⁸⁻⁹.

MATRIEL AUXILIAIRE

- Photomètre ou colorimètre avec compartiment de mesure thermostable à 25/30/37°C, capable de lire à 340 nm.
- Chronomètre, enregistreur graphique ou imprimant.
- Cuvettes de 1-cm de trajet optique.
- Pipettes pour mesure et distribution des réactifs et échantillons.

PROCEDURE

A. Détermination de l'activité totale de CK

Tester l'activité totale de la créatine kinase à 37°C en utilisant les réactifs CK-NAC de Linear, Ref. 1120005 ou 1120010.

Les échantillons avec une activité au-dessus de 2000 U/L devraient être dilués au 1:10 avec l'eau physiologique et analysés de nouveau. Multiplier les résultats obtenus par 10.

B. Détermination de l'activité de CK-B

Démarrer avec l'échantillon

Test de l'activité de CK-B à 37°C.

1. Ajuster le zéro du photomètre avec de l'eau distillée.
2. Pipeter dans des cuves:

Réactif de travail	1.0 mL
Echantillon ou contrôle	40 μ L

3. Mélanger doucement par retournements. Mettre la cuve dans le compartiment de lecture de l'appareil et chronométrer.
4. Incuber pendant 5 minutes, et noter l'absorbance initiale.
5. Répéter les lectures exactement à 1,2 et 3 minutes.
6. Calculer la différence entre les absorbances.
Calculer la moyenne des différences d'absorbances et en déduire la variation moyenne d'absorbances par minute ($\Delta A/\text{min}$).



Démarrer avec le substrat

Test de l'activité de CK-B à 37°C.

1. Ajuster le zéro du photomètre avec de l'eau distillée.
2. Pipeter dans des cuves:

R2	250 µL
Echantillon ou contrôle	50 µL

3. Mélanger. Incuber pendant 2 minutes et ajouter:

R1	1,0 mL
-----------	--------

4. Incuber pendant 5 minutes, et lire l'absorbance initiale.
5. Répéter les lectures exactement à 1,2 et 3 minutes.
6. Calculer la différence entre les absorbances.
Calculer la moyenne des différences d'absorbances et en déduire la variation moyenne d'absorbances par minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULS**Activité Totale de CK** U/L = $\Delta A \times 8095$ (37°C)**Activité de CK-B** U/L = $\Delta A \times 4180$

Multiplier l'activité de CK-B par 2 pour obtenir l'activité de CK-MB (U/L).

Les calculs sont communs aux deux procédures.

Pourcentage de l'activité de CK-MB

$$\frac{\text{Activité de CK-MB}}{\text{Activité Totale de CK}} \times 100 = \% \text{ activité de CK-MB}$$

VALEURS DE REFERENCE

Le rang normal de l'activité de CK-MB dans le sérum des adultes est considéré être de 2,0 U/L à 19,5 U/L à 37°C. Les nouveaux nés, nourrissons, et enfants ont des valeurs de CK-MB plus élevées que chez les adultes.

Un ratio entre les activités de CK-MB et de CK totale au-dessus de 4% devrait être considéré comme suspect, et au-dessus de 10% consécutif à un infarctus aigu du myocarde.⁴

Quand les trois conditions ci-dessous citées sont rencontrées, la probabilité d'atteinte du myocarde est très élevée.⁵

Condition	Température du test (37°)	
1	CK Hommes	> 190 U/L (3,17 µkat/L)
	CK Femmes	> 167 U/L (2,78 µkat/L)
2	CK-MB	> 24 U/L (0,40 µkat/L)
3	% CK-MB	6-25%

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs de référence.

CONTROLE DE QUALITE

Pour assurer un contrôle de qualité (QC) approprié, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles (normal et anormal), traités comme ayant des valeurs inconnues.

INTERPRETATION CLINIQUE

L'application majeure du test de CK-MB chez l'adulte est le diagnostic de l'infarctus aigu du myocarde (IAM) ou la différenciation des troubles du myocarde et des atteintes des muscles squelettiques. La Créatine kinase-MB est considérée comme un des meilleurs indicateurs de laboratoire de l'IAM. La détermination de la CK-MB dans la limite convenable de temps après l'infarctus du myocarde est la plus critique, l'intervalle de temps d'usage (fenêtre) étant d'environ 10 à 24 heures après l'infarctus. Sa détection est d'une importance dans la détermination du degré de l'atteinte et de l'efficacité du traitement.

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES- **Limite de détection** : 6,66 U/L- **Linéarité** : Jusqu'à 330 U/L- **Précision**:

U/L	Intra-série		Inter-série	
Moyenne	36,7	195,5	36,7	195,5
SD	1,92	5,76	5,27	3,76
CV%	5,27	2,94	3,15	1,92
N	10	10	10	10

- **Sensibilité** : 0,120 mA / min/ U/L CK-MB.

- **Corrélation**: Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus:

$$N = 44 \quad r = 0,99 \quad y = 0,938x + 1,345$$

Ces caractéristiques analytiques ont été obtenues en utilisant des équipements automatiques. Les résultats peuvent varier en fonction de l'équipement.

NOTES

1. Cette méthode peut être utilisée avec n'importe quel appareil. Toute application sur un appareil devrait être validée par une démonstration de la concordance des résultats avec les caractéristiques analytiques de la méthode. Il est recommandé de valider périodiquement l'appareil. Veuillez contacter le distributeur pour toutes questions relatives à l'application de la méthode.
2. Le diagnostic clinique ne devrait pas se limiter sur les seuls résultats du test, mais intégrer corrélativement les données cliniques et de laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Gerhardt and Waldenstrom, G. Clin. Chem. 25 : 1274 (1976).
2. Lang, H and Würzburg, U. Clin. Chem. 28 : 1439 (1982).
3. German Society for Clinical Chemistry: Recommendations of the Enzyme Commission. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15 : 255 (1977).
4. Wu, A.H.B. and Bowers, G.N, Jr. Clin. Chem. 28, 2017 (1982).
5. Stein, W. Med. Welt. 36 : 572 (1985).
6. Urdal P and Landaaas S. Clin Chem 1979; 25:461-465.
7. Tietz. N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, p.940. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1987).
8. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests. 5th ed. AACC (Press 2000).
9. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

B1121-2/0901
R1.fr

