

Creatina quinasa – MB Monlabtest®

Anti CK-M. Inmunoinhibición. Cinético UV. Líquido.

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

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. 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 2000 U/L of CK-MM		
R 2	ADP	15,2 mmol/L
	AMP	25 mmol/L
	di-Adenosina-5- pentafofato	103 mmol/L
	Glucosa-6-fofato deshidrogenasa (G6F-DH)	≥8 800 U/L
	Fosfato de creatina	250 mmol/L

Opcional

CK-NAC / CK-MB CONTROL	Suero humano liofilizado	MO-165110
-------------------------------	--------------------------	-----------

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 340 nm.
- Baño termoestable a 25°C, 30°C o 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

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 340 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (µL)	40

- Mezclar e incubar 10 minutos.
- Leer la absorbancia (A) 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: ΔA = A₂ - A₁.

CÁLCULOS

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

El factor de cálculo en analizadores automáticos (A/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 (MO-165110). 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

Actividad de la CK - MB x 100 = 6 - 25% de actividad de la CK - MB en la muestra
Actividad de la CK Total

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)	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 MonlabTest (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). Coeficiente de correlación (r)²: 0,999.

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

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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

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

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

MONLAB 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: 1112-1116.
- 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 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.

PRESENTACIÓN

Ref.: MO-165081 R1: 1 x 60 mL
R2: 1 x 15 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad



Creatine Kinase – MB MonlabTest®



Anti CK-M. Immunoinhibition. Kinetic UV. Liquid

Quantitative determination of creatine kinase MB (CK-MB)

Only for professional *in vitro* diagnostic use. 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 2 000 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: MO-165110

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 or 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 $\Delta A = A_2 - A_1$.

CALCULATIONS

$\Delta A \times 825 = \text{U/L of CK-B}$ $\Delta A \times 1651 = \text{U/L of CK-MB}$
Calculating factor in automatic analyzers by kinetic method ($\Delta A/\text{min.}$) is 8255.

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).

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. MO-165110) 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	

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

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 MonlabTest 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: $y = 0.976x - 0.269$.

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: Less 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 which 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

MONLAB 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: 1112-116.
- 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 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.

PACKAGING

Ref.: MO-165081

R1: 1 x 60 mL

R2: 1 x 15 mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by

