

Creatine kinase - MB

Anti CK-M. Immunoinhibition. Kinetic UV. Liquid

Quantitative determination of creatine kinase MB (CK-MB)

IVD

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}.

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: 1002260
-------------------------------	-------------------------	--------------

PREPARATION

MONO MODE: Pour reagent 2 content over reagent 1. Mix thoroughly avoiding foam forming and it will be ready to use (WR).

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 ≥ 1.60.

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.

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.

SAMPLES

Serum free of hemolysis or heparin 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.

APPLICATION TO SPINLAB 180

Name	CK-MB.	Ref. male low	0.0
Abbr. Name	CKMB	Ref. male high	24.0
Mode	Kinetic	Ref. female low	0.0
Wavelength	340 nm	Ref. female high	24.0
Units	U/L	Ref. Ped. Low	*
Decimals	1	Ref. Ped. High	*
Low Conc.	2.0 U/L	Control 1	*
High Conc.	1000.0 U/L	Control 2	*
Calibrator name	CAL	Control 3	*
Prozone check	No	Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
DUAL MODE		MONO MODE	
Sample blank	No	Sample blank	No
R1 bottle (mL)	25 mL	R1 bottle (mL)	25 mL
normal volume	300 µL	normal volume	300 µL
rerun volume	300 µL	rerun volume	300 µL
Sample		Sample	
normal volume	12.0 µL	normal volume	12.0 µL
rerun volume	6.0 µL	rerun volume	6.0 µL
R2 bottle (mL)	5 mL		
normal volume	0 µL		
rerun volume	0 µL		
Predilución	No		
Slope blank	No		
Delay, min. time	360, 159 sec.	Delay, min. time	304, 118 sec.
Linearity limit	10.0 %	Linearity limit	10.0 %
Factor		Factor	
Reagent blank	No	Reagent blank	No
Low Absorbance	-0.100 Abs	Low Absorbance	-0.100 Abs
High Absorbance	3.000 Abs	High Absorbance	3.000 Abs
R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs	R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs
R. Abs. H. Limit	3.000 Abs	R. Abs. H. Limit	3.000 Abs
R. Abs. Deviation	3.000 Abs	R. Abs. Deviation	3.000 Abs

QUALITY CONTROL

CK-Nac/CK-MB specific control sera (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

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

CK-MB Activity × 100: 6 - 25% CK-MB Activity in the sample
CK Total Activity

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

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*.
- Mathieu M. et coll. *Recommandation pour la mesure de la concentration catalytique de la créatinine 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 infarcton*. *Clin. Chim. Acta, 73, (1976), 445*.

PACKAGING

Ref: SP41254	Cont.	R1: 10 x 20 mL
		R2: 10 x 5 mL

Creatina quinasa - MB

Anti CK-M. Inmunoinhibición. Cinético UV. Líquido

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

IVD

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}. 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 2 000 U/L de CK-MM		
R 2	ADP	15.2 mmol/L
	AMP	25 mmol/L
	di-Adenosina-5- pentafofato	103 mmol/L
	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH)	≥8 800 U/L
	Fosfato de creatina	250 mmol/L

Opcional

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

PREPARACIÓN

MODO MONO: Verter el contenido del vial 2 en el vial 1. Mezclar sin formar espuma y estará listo para su uso (RT).

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 ≥ 1,60.

MATERIAL ADICIONAL

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

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.

MUESTRAS

Suero libre de hemólisis o plasma heparinizado¹. 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.

APLICACIÓN AL SPINLAB-180

Nombre	CK-MB	Ref. Hombre Inf.	0.0
Nombre abreviado	CK-MB	Ref. Hombre Sup.	24.0
Modo	Cinético	Ref. Mujer Inf.	0.0
Long. ondas	340 nm	Ref. Mujer Sup.	24.0
Unidades	U/L	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	1	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	2.0 U/L	Valor pánico bajo	*
Conc. Superior	1000.0 U/L	Valor pánico alto	*
Calibrador	CAL	Control 1	*
Chequeo prozona	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
MODO DUAL		MODO MONO	
Blanco muestra	No	Blanco muestra	No
Frasco R1 (mL)	25 mL	Frasco R1 (mL)	25 mL
Vol. normal	300 µL	Vol. normal	300 µL
Vol. repet.	300 µL	Vol. repet.	300 µL
Muestra		Muestra	
Vol. normal	12.0 µL	Vol. normal	12.0 µL
Vol. repet.	6.0 µL	Vol. repet.	6.0 µL
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. normal	0 µL		
Vol. repet.	0 µL		
Predilución	No		
Pendiente Blco.	No		
1er,2o punto	360, 159 seg.	1er,2o punto	304, 118 seg.
Lim. Linealidad	10.0 %	Lim. Linealidad	10.0 %
Factor		Factor	
Blanco reactivo	No	Blanco reactivo	No
Absorbancia inf.	-0.100 Abs	Absorbancia inf.	-0.100 Abs
Absorbancia sup.	3.000 Abs	Absorbancia sup.	3.000 Abs
Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs	LimInf. Abs. React.	-0.100 Abs
Lim.Sup. Abs. React.	3.000 Abs	LimSup. Abs. React.	3.000 Abs
Desv. Abs. React.	3.000 Abs	Desv. Abs. React.	3.000 Abs

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 sospecha de daño miocárdico se basa en las tres siguientes condiciones:

CK-MB	25°C	30°C	37°C
	> 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 / Actividad de la CK Total x 100: 6 - 25% de actividad de la CK -MB

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

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 immunohinhibition 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. Recommendation pour la mesure de la concentration catalytique de la créatinine 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.

PRESENTACIÓN

Ref: SP41254	Cont.	R1: 10 x 20 mL
		R2: 10 x 5 mL