

CRÉATINE KINASE MB (CK-MB)

REF : CKMP-MK-0605 (6x5ml)
REF : CKMP-MK-1010 (10x10ml)
REF : CKMP-MK-0610 (6x10ml)

Utilisation

Le réactif Créatine Kinase MB (CK-MB) de NS BIOTEC est conçu pour la détermination diagnostique et quantitative in-vitro de la créatine kinase MB dans le sérum humain sur des systèmes automatisés et manuels.

Rappel

La créatine kinase (CK) est une enzyme présente dans le cœur, le cerveau et les muscles squelettiques. Ainsi, une augmentation du taux de CK circulant peut être associée à un infarctus du myocarde, une maladie vasculaire cérébrale aigue, un trauma ou une maladie des muscles squelettiques. À la suite d'un infarctus du myocarde, le taux de CK commence à s'élever 4 à 6 heures après l'apparition des premiers symptômes et atteint son maximum entre 18 et 30 heures, pour finalement revenir à son taux normal le 3^{ème} jour. CK est présente sous 3 formes isoenzymatiques différentes et elles peuvent être séparées par électrophorèse ou par chromatographie sur colonne. Chaque forme provient de différent tissu dans le corps, ce qui représente un outil pour la détermination du diagnostic. CK-MB existe dans le sérum sous différents dimères, tels que CK-MM, CK-MB et CK-BB mais aussi en tant que macro-enzymes. La mesure de CK-MB est un test assez spécifique à la détection de dommage des muscles cardiaques et est donc utilisée pour le diagnostic et le contrôle des infarctus du myocarde.

Méthode

Après immuno-inhibition de la sous-unité CK-M, à l'aide d'anticorps, l'activité de CK-B est déterminée par une méthode de taux fixe selon les recommandations de la Fédération Internationale de chimie clinique (IFCC).

Méthode du principe

Un anticorps spécifique inhibe la sous-unité M de CK-MM et CK-MB, ce qui permet de déterminer la sous-unité B de CK-MB (il suppose que CK-BB ou CK-1 sont absents). La concentration catalytique de CK-B, qui représente la moitié de la concentration de CK-MB, est déterminé à partir du taux de formation de NADPH et est mesuré à 340 nm à l'aide d'une réaction couplée 1,3 entre hexokinase (HK) et glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH).

Créatine phosphate + ADP $\xrightarrow{\text{CK}}$ créatine + ATP

ATP + glucose $\xrightarrow{\text{HK}}$ ADP + glucose-6-phosphate

Glucose-6-phosphate + NADP⁺
 $\xrightarrow{\text{G6PDH}}$
6-phosphogluconate + NADPH + H⁺

Réactifs

Réactif 1 (pH 6.7) (Tampon/Coenzyme)

Imidazole	125 mmol/L
D-glucose	25 mmol/L
N-acétyl-L-cystéine	25 mmol/L
Acétate de magnésium	12.5 mmol/L
NADP	2.5 mmol/L
EDTA	2 mmol/L

Réactif 2 (Enzymes)

ADP	15.2 mmol/L
AMP	25 mmol/L
P1,P5-di (adenosine-5'-) penta-phosphate	103 mmol/L
Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH)	9 KU/L
Créatine phosphate	250 mmol/L
Hexokinase (HK)	3 KU/L
Anti-humain-CK-M.	

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon. En cas de blessures sévères, consulter un médecin immédiatement.

Détérioration

Ne pas utiliser le réactif CK-MB de NS BIOTEC s'il apparaît turbide ou en cas de présence de particules.

Préparation du réactif, stockage et stabilité

Les réactifs CK-MB sont fournis prêts à l'emploi et sont stables jusqu'à la date d'expiration mentionnée sur les flacons, si conservés de manière appropriée à 2-8°C, à l'abri de la lumière et que toute contamination a été évitée lors de l'utilisation.

Une fois ouvert, le réactif est stable durant 2 mois à la température indiquée.

Collecte de l'échantillon et conservation

Du sérum non-hémolysé est l'échantillon de choix. Du plasma en présence d'héparine, de citrate, de fluorure ou EDTA peut produire des taux de réaction imprévisibles. L'échantillon est stable durant 2 heures à 20-25°C ou 5 jours à 4-8°C. La concentration totale de CK dans l'échantillon doit être inférieure à 1000 U/L. Si nécessaire, diluer le sérum de 1/2 à l'aide de NaCl (150 mmol/L).

Paramètres du système

Longueur d'onde	340 nm (334-365 nm)
Cuvette	1 cm
Type de réaction	Taux fixe
Sens de la réaction	Croissant
Échantillon : Réactif rapport	1 : 25
Température	37°C
Temps d'équilibrage	60 secondes
Réglage du zéro	Contre l'air
Sensibilité	2 U/L
Linéarité	2000 U/L

Procédure

Pipeter dans une cuvette :	
Réactif 1 (R1)	400 µl
Réactif (R2)	100 µl
Bien mélanger et incuber 5 minutes à 37°C	
Échantillon	20 µl

Mesurer l'absorbance initiale (A1) après 60 secondes et commencer le chronomètre simultanément. Mesurer (A2) après 5 minutes.

Calcul

$(A2-A1) \times 1651 = \text{CK-MB en U/L}$.

Unité : Une unité internationale (UI) représente la quantité d'enzyme qui transforme 1 µmol de substrat par minute, dans des conditions standards. La concentration est exprimée en unité par litre d'échantillon (U/L).

Valeurs recommandées

La valeur de discrimination pour un infarctus du myocarde est aux alentours de 25 U/L. Cependant, un indice plus élevé que 6% de la concentration totale de CK est un discernement meilleur. Ces valeurs représentent uniquement une aide, et chaque laboratoire doit établir son propre intervalle de référence.

Contrôle de qualité

Des contrôles de sérum commerciaux dont les concentrations sont connus, aussi bien normal qu'anormal, devraient être réalisés avec chaque test.

Performance de la méthode

Précision

Intra-série (répétabilité)

	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20
Moyenne (U/L)	45	129
CV %	3.5	3.2

Inter-série (reproductibilité)

	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20
Moyenne (U/L)	40	130
CV %	2.8	2.3

Méthode de comparaison

Une comparaison entre le réactif CK-MB de NS BIOTEC et un réactif commercial, suivant la même méthodologie, a été réalisée sur 20 sérums humains. Une corrélation de 0.959 a été obtenue.

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection est de 2.0 U/L.

Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration de CK-MB de 2000 U/L. Les échantillons présentant une concentration plus élevée doivent être dilués : 1V+2V en utilisant une solution physiologique saline. Répéter l'essai et multiplier le résultat par 3.

Interférences :

Hémoglobine (<2.5 g/L), lipémie (lipides <900 mg/dL) et bilirubine (<25 mg/dL) n'interfèrent pas. Dans ces échantillons, la présence de ces concentrations normales avec CK-BB ou adénylate kinase et de CK d'origine macro ou mitochondriale interfère. D'autres médicaments et substances peuvent interférer.

Références

1. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase. JIFCC 1989; 1: 130-139.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
3. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
4. Urdal P and Landaas S. Clin Chem 1979; 25: 461-465.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

 NS BIOTEC MEDICAL EQUIPMENT 66 Port Said St., Camp Shezar Alexandria – Egypt Tele: 002 03 592 0902 Fax : 002 03 592 0908 Website: www.nsbiotec.com E- mail : info@nsbiotec.com	  CMC Medical Devices & Drugs S.L. C/ Horacio Lengo, 18. 29006. Málaga, Spain
--	---