



# CK-MB DS UNIII

unitest

**MONOCLONAL**

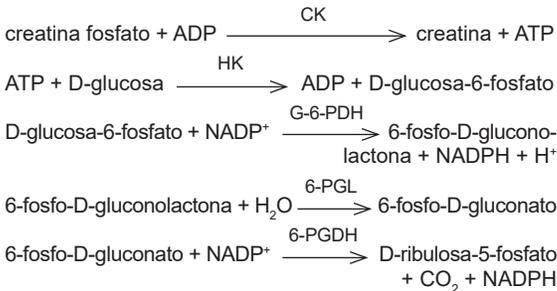
**Método de doble sensibilidad para la determinación de CK-MB en suero o plasma**

### SIGNIFICACION CLINICA

La Creatina Kínasa (CK) es una enzima intramuscular constituida por una subunidad M (músculo) y otra subunidad B (brain = cerebro) que se combinan dando lugar a las isoenzimas CK-MM (muscular), CK-BB (cerebral) y CK-MB (miocárdica). La elevación sérica de CK y de CK-MB constituye un indicador de injuria de miocardio. Luego de un infarto agudo de miocardio, en aproximadamente el 55% de los casos, el pico máximo de elevación de CK y CK-MB se produce en forma simultánea, mientras que en el 45% de los casos la elevación máxima de CK-MB precede a la de CK total.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

El esquema reaccional luego de la inhibición específica de las subunidades CK-M con anticuerpos monoclonales (que inhiben tanto la isoenzima MM como las subunidades M de la CK-MB), es el siguiente:



El empleo de 6-fosfo-D-gluconolactonasa (6-PGL) y 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGDH) aumenta la sensibilidad ya que provoca la liberación de otra molécula de NADPH al medio de reacción, duplicando la señal.

Dado que la isoenzima CK-BB se encuentra raramente en suero y la actividad catalítica de las subunidades CK-M y CK-B prácticamente no difiere, la actividad catalítica de la CK-MB puede calcularse de la actividad de CK-B medida, multiplicando el resultado por 2.

HK: hexoquinasa (levadura); G-6-PDH: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (microbiana); 6-PGL: 6-fosfo-D-gluconolactonasa (microbiana); 6-PGDH: 6-fosfogluconato deshidrogenasa (levadura); ATP/ADP: adenosina 5' tri/difosfato; NADH: nicotinamida-adenina dinucleótido reducida; NAD<sup>+</sup>: nicotinamida-adenina dinucleótido.

### REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** viales para determinaciones individuales conteniendo cantidades suficientes para obtener las siguientes concentraciones una vez reconstituídos:

creatina fosfato.....	30 mmol/l
ADP .....	2 mmol/l
glucosa .....	20 mmol/l
NADP.....	2 mmol/l
hexoquinasa (HK).....	≥ 2500 U/l
glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) ...	≥ 2000 U/l
acetato de magnesio .....	10 mmol/l
AMP .....	5 mmol/l
di-(adenosina-5') pentaosfato .....	10 umol/l
N-acetilcisteína (NAC) .....	20 mmol/l
6-fosfogluconolactonasa (6-PGL).....	≥ 200 U/l
6-fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGDH) .....	≥ 400 U/l
Anticuerpos monoclonales capaces de inhibir 1000 U/l de CK-M (a 25°C) o 2000 U/l de CK-M (a 37°C).	

**B. Reactivo B:** solución de buffer imidazol 100 mmol/l; pH 6,7.

**Control:** vial conteniendo CK-MB de origen humano, liofilizada (ver tabla adjunta para valor teórico).

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** agregar 2,5 ml de Reactivo B a un vial de Reactivo A. Tapar y agitar hasta disolución completa.

**Reactivo B:** listo para usar.

**Control:** abrir el vial teniendo la precaución de no perder material. Pipetear exactamente 1 ml de agua destilada. Tapar y esperar 5 minutos. Disolver el contenido completamente por inversión del vial. El Control de CK-MB reconstituído se trata de la misma manera que una muestra desconocida.

### PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

No ingerir. Evitar el contacto con piel y ojos. En caso de derrame o salpicaduras, lavar con abundante agua la zona afectada.

El Reactivo B contiene azida.

El Control ha sido examinado para HIV, HCV y HBV encontrándose no reactivo. No obstante, debe ser empleado como si se tratara de material infectivo.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

**Reactivo A reconstituído:** en refrigerador (2-10°C) es estable 7 días a partir del momento de su reconstitución.

**Control reconstituído:** estable 3 días a 2-10°C, o 3 meses congelado (-20°C). No congelar y descongelar repetidamente.

## INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La dificultad en obtener los valores de los controles dentro del rango asignado es indicio de deterioro de los Reactivos. En tal caso, desechar.

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a 0 con agua destilada, lecturas de Absorbancia del Reactivo A reconstituido > 0,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

## MUESTRA

Suero o plasma

**a) Recolección:** obtener de la manera usual.

**b) Aditivos:** en el caso de que la muestra a emplear sea plasma, debe usarse heparina o EDTA como anticoagulante. Se recomienda el empleo de **Anticoagulante W** de Wiener lab.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** los sueros con hemólisis visible o intensa, producen valores falsamente aumentados, por lo que no deben ser usados.

No se observan interferencias por hemoglobina hasta 50 mg/dl, bilirrubina hasta 2,5 mg/dl (25 mg/l) y heparina hasta 20 U/ml. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la muestra debe ser fresca. En caso de no procesarse en el momento, puede ser conservada 12 horas a temperatura ambiente (<25°C), 3 días refrigerada (2-10°C) o 1 mes congelada (-20°C).

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a la temperatura indicada en PROCEDIMIENTO.
- Cronómetro.

## CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366).
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C.
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volúmenes de muestra y reactivo: pueden variarse proporcionalmente (ej. 40 ul muestra + 1 ml Reactivo A reconstituido o 20 ul muestra + 500 ul Reactivo A reconstituido).

## PROCEDIMIENTO

Llevar el aparato a cero con agua destilada. Ver INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS. En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada (25, 30 ó 37°C) colocar:

<b>Reactivo A reconstituido</b>	2,5 ml
---------------------------------	--------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

<b>Muestra</b>	100 ul
----------------	--------

Mezclar inmediatamente por inversión. Esperar 5 minutos. Ajustar la absorbancia a un valor de referencia y disparar simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia cada minuto, durante 5 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ( $\Delta A/\text{min}$ ) restando a cada lectura la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

## CALCULO DE LOS RESULTADOS

$CK-MB (U/l) = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$

Medida a 340 nm:  $CK-MB (U/l) = \Delta A/\text{min} \times 4.127$

Medida a Hg 334:  $CK-MB (U/l) = \Delta A/\text{min} \times 4.207$

Medida a Hg 366:  $CK-MB (U/l) = \Delta A/\text{min} \times 7.429$

Los factores arriba mencionados ya contemplan la corrección necesaria para convertir el valor de CK-B en CK-MB.

## METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar un material de control de calidad (**Control CK-MB**) con actividades conocidas de CK-MB, con cada determinación.

## VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(2)</sup>	37°C <sup>(2)</sup>
Valores	10 U/l	16 U/l	25 U/l

<sup>(1)</sup> Stein, W. - Med. Welt. 36:572, 1985.

<sup>(2)</sup> Valores calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

## CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$CK-MB (U/l) \times 0,01 = CK-MB (ukat/l)$

## INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Se tiene alta probabilidad de daño de miocardio si se cumplen simultáneamente las siguientes condiciones:

1- La actividad de CK total excede los siguientes rangos normales:

Temperatura	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(2)</sup>	37°C <sup>(3)</sup>
Varones	≤ 80 U/l	≤ 130 U/l	≤ 195 U/l
Mujeres	≤ 70 U/l	≤ 110 U/l	≤ 170 U/l

<sup>(1)</sup> Stein W. - Med. Welt. 1985; 36:572.

<sup>(2)</sup> Szaz G., Busch E.W. - Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June 1979.

<sup>(3)</sup> Calculado

2- La actividad de CK-MB excede los valores normales. Ver VALORES DE REFERENCIA.

3- El porcentaje de CK-MB se encuentra entre el 6-20% del valor de CK total. Si el porcentaje es menor al 6% es probable que haya daño del músculo esquelético. Si el porcentaje supera el 20% del valor total de CK se puede sospechar de la presencia de una forma macro de CK (CK atípica) que no es inhibida por los anticuerpos anti CK-M.

La presencia de CK atípica puede determinarse por:

- Persistencia por más de 48 horas (la CK-MB decaea aproximadamente a las 30-48 horas de iniciado el infarto).
- Estabilidad frente al tratamiento de la muestra a 40°C durante 20 minutos.
- Análisis electroforético (se obtiene una banda entre las isoenzimas MM y MB).

Si se sospecha daño de miocardio y los valores se encuentran por debajo del rango normal, existe la posibilidad de un infarto reciente. En este caso debe repetirse la determinación luego de 4 horas.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.  
Muestras con actividad CK total que supera las 1000 U/l (a 25°C) o las 2000 U/l (a 37°C) deben diluirse con solución fisiológica (cloruro de sodio 0,9%). El resultado obtenido debe multiplicarse por la dilución efectuada.

## PERFORMANCE

Los ensayos fueron realizados en analizador automático Express Plus<sup>®</sup>. Si se usa el procedimiento manual, se debe validar que se obtenga una performance similar a la siguiente:  
**a) Reproducibilidad:** procesando de acuerdo al documento EP5A del NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), se obtuvo lo siguiente:

### Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
39,5 U/l	± 0,6 U/l	1,44 %
183,4 U/l	± 1,9 U/l	1,05 %

### Precisión total

Nivel	D.S.	C.V.
39,5 U/l	± 0,8 U/l	1,90 %
183,4 U/l	± 2,6 U/l	1,39 %

**b) Sensibilidad analítica:** 7,1 U/l.

**c) Linealidad:** la reacción es lineal hasta una actividad de CK-MB de 350 U/l. Para valores superiores, se debe diluir la muestra con solución fisiológica y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

**d) Correlación:** se determinó el valor de CK-MB en 84 muestras con **CK-MB DS UV unitest** de Wiener lab. y un kit comercial basado en el mismo principio, obteniéndose el siguiente coeficiente de correlación:

$r = 0.9985$ , pendiente  $b = 0.9779$ , intersección  $a = -1.5464$

## PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Consultar las instrucciones de programación en el Manual del Usuario del analizador en uso.

## PRESENTACION

- 28 viales x 2,5 ml + 2 Control c.s.p. 1 ml (Cód. 1271354).

## BIBLIOGRAFIA

- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- I.F.C.C. - Clínica Química Acta 105:147F (1980).
- Wu, A.; Bowers, G. - Clin. Chem. 28/10:2017 (1982).
- Gerhardt, W.; Waldenstrom, J. - Clin. Chem. 28:277 (1982).
- Würzburg, U. et al. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15:131 (1977).
- Young, D.S. - «Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests», AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Saunders Co., 3rd ed (1999).
- National Committee for Clinical Chemistry Standards (NCCLS). Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).
- Stein W. Med Welt; 36:572 (1985).
- Szasz G, Busch EW. Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8. June 1979 (Abstract).

## SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo



# CK-MB DS UNIII

unitest

**MONOCLONAL**

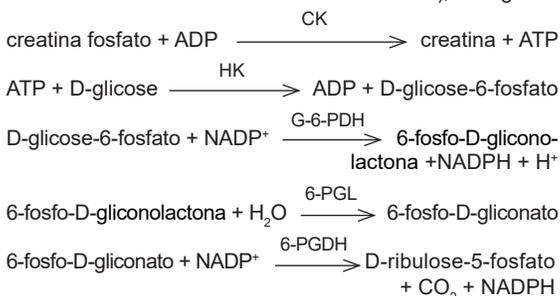
**Método de dobre sensibilidade para a determinação de CK-MB em soro ou plasma**

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A Creatina Quinase (CK) é uma enzima intramuscular constituída por uma sub-unidade M (músculo) e outra sub-unidade B (brain = cérebro) que combinam-se dando lugar às isoenzimas CK-MM (muscular), CK-BB (cerebral) e CK-MB (miocárdica). A elevação sérica de CK e de CK-MB constitui um indicador de moléstia do miocárdio. Depois de um enfarte agudo do miocárdio, em aproximadamente o 55% dos casos o pico máximo de elevação de CK e CK-MB se produz de forma simultânea, ao passo que 45% dos casos a elevação máxima de CK-MB precede à do CK total.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O esquema de reação depois da inibição específica das sub-unidades CK-M com anticorpos monoclonais (que inibem tanto a isoenzima MM como as sub-unidades M da CK-MB), é o seguinte:



A utilização de 6-fosfo-D-gliconolactonase (6-PGL) e 6-fosfogliconato desidrogenase (6-PGDH) aumenta a sensibilidade provocando a liberação de outra molécula de NADPH na metade da reação, duplicando o sinal.

Dado que a presença da isoenzima CK-MB no soro é quase nula e a atividade catalítica das sub-unidades CK-M e CK-B praticamente não difere, a atividade da CK-MB pode-se calcular com a atividade medida de CK-B e multiplicando o resultado por 2.

HK: hexoquinase (levedura); G-6-PDH: glicose-6-fosfato desidrogenase (microbiana); 6-PGL: 6-fosfo-D-gliconolactonase (microbiana); 6-PGDH: 6-fosfogliconato desidrogenase (levedura); ATP/ADP; adenosina 5' tri/difosfato; NADH: nicotinamida-adenina dinucleótido reduzida; NAD<sup>+</sup>: nicotinamida-adenina dinucleótido.

## REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** frascos para determinações individuais contendo quantidades suficientes para obter as seguintes concentrações depois de reconstituídos:

creatina fosfato .....	30 mmol/l
ADP .....	2 mmol/l
glicose .....	20 mmol/l

NADP .....	2 mmol/l
hexoquinase (HK) .....	≥ 2500 U/l
glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH) .....	≥ 2000 U/l
acetato de magnésio .....	10 mmol/l
AMP .....	5 mmol/l
di-(adenosina-5') pentafofato .....	10 μmol/l
N-acetilcisteína (NAC) .....	20 mmol/l
6-fosfogliconolactonase (6-PGL) .....	≥ 200 U/l
6-fosfogliconato desidrogenase (6-PGDH) .....	≥ 400 U/l

Anticorpos monoclonais capazes de inibir 1000 U/l de CK-M (a 25°C) ou 2000 U/l de CK-M (a 37°C).

**B. Reagente B:** solução de tampão imidazol 100 mmol/l; pH 6,7.

**Controle:** frasco contendo CK-MB de origem humano, liofilizado (vide tabela anexa para valor teórico).

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagente A:** adicionar 2,5 ml de Reagente B a um frasco de Reagente A. Tampar e agitar até a dissolução completa.

**Reagente B:** pronto para uso.

**Controle:** abrir o frasco tendo a precaução de não perder material. Pipetar exatamente o volume de água destilada. Tampar e esperar 5 minutos. Dissolver o conteúdo completamente por inversão do frasco. O Controle de CK-MB reconstituído deve ser tratado da mesma forma que uma amostra desconhecida.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Não ingerir. Evitar o contato com a pele e os olhos. Caso de se produzir derrames ou salpicaduras, lave-se com abundante água a zona afetada.

O Reagente B contém azida.

O Controle foi examinado para HIV, HCV e HBV encontrando-se não reativo. No entanto, deve ser empregado como tratando-se de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos:** estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

**Reagente A reconstituído:** sob refrigeração (2-10°C) é estável durante 7 dias a partir do momento de sua reconstituição.

**Controle reconstituído:** estável 3 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 3 meses congelado (-20°C). Não congelar e descongelar repetidamente.

## INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

A dificuldade para obter os valores dos controles dentro da faixa assinada, é indício de deterioração dos Reagentes. Descartá-los. Quando o espectrofotômetro for zerado com água destilada e as leituras de Absorbância do Reagente A reconstituído forem > 0,800 D.O. (a 340 nm) são indício de deterioração.

## AMOSTRA

Soro ou plasma

**a) Coleta:** obter da modo usual.

**b) Aditivos:** caso a amostra usada seja plasma, deve ser utilizada heparina ou EDTA como anticoagulante. Recomenda-se o emprego de **Anticoagulante W** de Wiener lab.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** os soros com hemólises visíveis ou intensas produzem valores falsamente aumentados, portanto não devem ser usados.

Não se observam interferências por hemoglobina até 50 mg/dl, bilirrubina até 2,5 mg/dl (25 mg/l) e heparina até 20 U/ml. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a amostra deve ser fresca. Em caso de não se processar na hora, pode-se conservar 12 horas a temperatura ambiente (< 25°C), 3 dias refrigerada (2-10°C) ou 1 mês congelada (-20°C).

## MATERIAL NECESSÁRIO ( não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Banho-maria à temperatura indicada em PROCEDIMENTO.
- Cronômetro.

## CONDIÇÕES DE REAÇÃO

(Aumento de absorbância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366)
- Temperatura da reação: 25, 30 ou 37°C.
- Tempo de reação: 10 minutos
- Os volumes de amostra e reagente podem-se variar proporcionalmente (ex. 40 ul amostra + 1 ml Reagente A reconstituído ou 20 ul amostra + 500 ul Reagente A reconstituído).

### PROCEDIMENTO

Zerar o aparelho com água destilada. Vide INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES. Em uma cubeta mantida à temperatura de reação selecionada (25, 30 ou 37°C) colocar:

<b>Reagente A reconstituído</b>	2,5 ml
---------------------------------	--------

Preincubar alguns minutos, e depois adicionar:

<b>Amostra</b>	100 ul
----------------	--------

Misturar imediatamente por inversão. Esperar 5 minutos. Ajustar a absorbância a um valor de referência e disparar simultaneamente o cronômetro. Registrar a absorbância cada minuto, durante 5 minutos. Determinar a diferença média de Absorbância/min ( $\Delta A/\text{min}$ ), subtraindo a cada leitura a anterior e tirando a média destes valores. Utilizar esta média para os cálculos.

## CÁLCULO DOS RESULTADOS

CK-MB U/l =  $\Delta A/\text{min}$  x fator

Medida a 340 nm: CK-MB U/l =  $\Delta A/\text{min}$  x 4.127

Medida a Hg 334 nm: CK-MB U/l =  $\Delta A/\text{min}$  x 4.207

Medida a Hg 366 nm: CK-MB U/l =  $\Delta A/\text{min}$  x 7.429

Os fatores mencionados anteriormente já têm incluída a correção necessária para converter o valor de CK-B em CK-MB.

## MÉTODOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar um material de controle de qualidade (**Controle CK-MB**) com atividades conhecidas de CK-MB, com cada determinação.

## VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(2)</sup>	37°C <sup>(2)</sup>
Valores	10 U/l	16 U/l	25 U/l

<sup>(1)</sup> Stein, W. - Med. Welt. 36:572, 1985.

<sup>(2)</sup> Valores calculados

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

## CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

CK-MB (U/l) x 0,01 = CK-MB (ukat/l)

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Existe alta probabilidade de dano do miocárdio se são cumpridas simultaneamente as seguintes condições:

1- A atividade de CK total excede as seguintes faixas normais:

Temperatura	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(2)</sup>	37°C <sup>(3)</sup>
Homens	≤ 80 U/l	≤ 130 U/l	≤ 195 U/l
Mulheres	≤ 70 U/l	≤ 110 U/l	≤ 170 U/l

<sup>(1)</sup> Stein W. - Med. Welt. 1985; 36:572.

<sup>(2)</sup> Szaz G., Busch E.W. - Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June 1979.

<sup>(3)</sup> Calculado

2- A atividade de CK-MB excede os valores normais. Vide VALORES DE REFERÊNCIA.

3- A porcentagem de CK-MB encontra-se entre 6-20% do valor de CK total. Se a porcentagem é menor que 6% é provável que exista dano do músculo esquelético. Se a porcentagem supera 20% do valor total de CK, pode-se suspeitar a presença de uma forma macro de CK (CK atípica) que não é inibida pelos anticorpos anti-CK-M.

A presença de CK atípica pode ser determinada por:

a) Persistência por mais de 48 horas (a CK-MB decai aproximadamente às 30-48 horas do início do enfarte).

b) Estabilidade frente ao tratamento da amostra a 40°C durante 20 minutos.

c) Análise electroforético (obtem-se uma banda entre as isoenzimas MM e MB).

Caso haja suspeita de dano de miocárdio e os valores se encontrarem inferiores à faixa normal, existe a possibilidade de um enfarte recente. Neste caso a determinação deve ser repetida após 4 horas.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

Amostras com atividades CK total que superam as 1000 U/l (a 25°C) ou 2000 U/l (a 37°C) devem ser diluídas com solução fisiológica (cloreto de sódio 0,9%). O resultado obtido deve ser multiplicado pela diluição efetuada.

## DESEMPENHO

Os ensaios foram realizados em analisador automático Express Plus<sup>®</sup>. Se se utiliza o procedimento manual, deve-se validar que seja obtida uma performance semelhante à seguinte:

**a) Reprodutibilidade:** processando segundo o documento EP5A do NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), obtêm-se os seguintes valores:

### Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
39,5 U/l	± 0,6 U/l	1,44 %
183,4 U/l	± 1,9 U/l	1,05 %

### Precisão total

Nível	D.P.	C.V.
39,5 U/l	± 0,8 U/l	1,90 %
183,4 U/l	± 2,6 U/l	1,39 %

**b) Sensibilidade analítica:** 7,1 U/l.

**c) Linearidade:** a reação é linear até uma atividade de 350 U/l. Para valores superiores, deve-se diluir a amostra com solução fisiológica e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

**d) Correlação:** o valor de CK-M foi determinado em 84 amostras com **CK-MB DS UV unitest** da Wiener lab. e um kit comercial baseado no mesmo princípio, obtendo-se o seguinte coeficiente de correlação:

$$r = 0.9985, \text{pendente } b = 0.9779, \text{interseção } a = -1.5464$$

## PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Consultar as instruções de programação no Manual de Uso do analisador a utilizar.

## APRESENTAÇÃO

- 28 frascos x 2,5 ml + 2 Controle q.s.p. 1 ml (Cód. 1271354).

## REFERÊNCIA

- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- I.F.C.C. - Clínica Química Acta 105:147F (1980).
- Wu, A.; Bowers, G. - Clin. Chem. 28/10:2017 (1982).
- Gerhardt, W.; Waldenstrom, J. - Clin. Chem. 28:277 (1982).
- Würzburg, U. et al. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15:131 (1977).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Saunders Co., 3<sup>rd</sup> ed (1999).
- National Committee for Clinical Chemistry Standards (NCCLS). Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).
- Stein W. Med Welt; 36:572 (1985).
- Szasz G, Busch EW. Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8. June 1979 (Abstract).

## SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes

 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico

 Volume após a reconstituição

 Conteúdo

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo



# CK-MB<sub>DS</sub> UNIM

unitest

**MONOCLONAL**

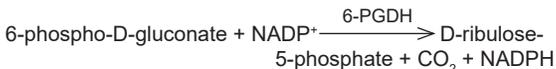
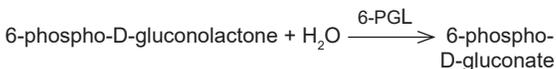
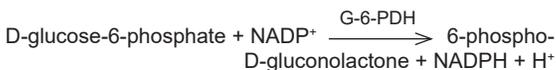
Double Sensitivity method for CK-MB determination in serum or plasma

### SUMMARY

Creatine Kinase (CK) is a dimeric enzyme occurring in three cytoplasmatic forms. Isoenzymes CK-MM is a muscle enzyme, CK-BB is a brain enzyme and CK-MB is the heart enzyme. Serum increase levels of total CK and isoenzyme CK-MB are indicators of myocardial injury. After an acute myocardial infarction, in approximately 55% of the cases, the highest increase of CK and CK-MB is simultaneously produced, while in 45% of the cases the highest increase of CK-MB precedes the one of total CK.

### PRINCIPLE

The method is based on the specific inhibition of the CK-M subunit with monoclonal antibodies anti-CK-M. The antibodies inhibit not only the MM isoenzyme but also the M subunit corresponding to CK-MB. The reaction system is the following:



The use of 6-phospho-D-gluconolactonase (6-PGL) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGDH) increases sensitivity by releasing another molecule of NADPH into the reaction, duplicating the signal.

As the CK-BB isoenzyme appears only rarely in serum and the catalytic activity of the CK-M and the CK-B subunits hardly differ, the catalytic activity of the CK-MB isoenzyme can be calculated measuring CK-B activity by multiplying the result by 2.

HK: hexokinase; G-6-PDH: glucose-6-phosphate dehydrogenase; 6-PGL: 6-phospho-D-gluconolactonase; 6-PGDH: 6-phosphogluconate dehydrogenase; ATP/ADP: adenosine 5' tri/diphosphate; NADH: nicotinamide-adenine dinucleotide (reduced); NAD<sup>+</sup>: nicotinamide-adenine dinucleotide.

### PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A:** solution with creatine phosphate, anti-CK-M antibodies and reactive components in sufficient quantities to obtain the following final concentrations:

Creatine phosphate .....	30 mmol/l
ADP .....	2 mmol/l
Glucose .....	20 mmol/l
NADP .....	2 mmol/l
Hexokinase (HK) .....	≥ 2 500 U/l
Glucose-6-P-dehydrogenase (G-6-PDH) .....	≥ 2 000 U/l
Magnesium acetate .....	10 mmol/l
AMP .....	5 mmol/l
Di (adenosine-5') pentaphosphate .....	10 μmol/l
N-acetyl-cysteine (NAC) .....	20 mmol/l
6-phospho-gluconolactonase (6-PGL) .....	≥ 200 U/l
6-P-gluconate dehydrogenase (6-PGDH) .....	≥ 400 U/l
Monoclonal antibodies capable of inhibiting 1000 U/l of CK-M (at 25°C) or 2000 U/l of CK-M (at 37°C).	

**B. Reagent B:** 100 mmol/l imidazole buffer solution, pH 6.7.  
**Control:** vial containing lyophilized human CK-MB (see attached table for theoretic value).

### INSTRUCTIONS FOR USE

**Reagent A:** add 2.5 ml Reagent B into a Reagent A vial. Cap and shake until complete dissolution.

**Reagent B:** ready to use.

**Control:** open the vial carefully trying to not spill the content. Reconstitute with the distilled water volume stated in the label. Cap and wait for 5 minutes. Dissolve the content of the vial completely by inversion. The reconstituted CK-MB Control is treated in the same way as an unknown sample.

### WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use. Buffer contains azide.

Do not ingest. Avoid contact with skin and eyes. If spilt or splash, wash affected area with plenty of water.

The Control has been tested for HIV, HCV and HBV being found non-reactive. Nonetheless, it should be handled as infectious material.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

### STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagents:** stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box.

**Reconstituted Reagent A:** stable at 2-10°C for up to 7 days after reconstitution date.

**Reconstituted Control:** stable at 2-10°C for up to 3 days or for up to 3 months at -20°C. Do not freeze and thaw repeatedly.

## INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Failure to recover control values within the assigned range could indicate deterioration and the reagents should not be used.

When the spectrophotometer has been set to zero with distilled water, absorbance readings of the reconstituted Reagent A higher than 0.800 O.D. (at 340 nm) indicate its deterioration.

## SAMPLE

Serum or plasma

**a) Collection:** obtain in the usual way.

**b) Additives:** when using plasma, heparin or EDTA must be used as anticoagulant. The use of Wiener lab. **Anticoagulant W** Wiener lab is recommended.

**c) Known interfering substances:** sera with visible or intense hemolysis should not be used as they produce false increased values.

No interferences are observed with hemoglobin up to 50 mg/dl, bilirubin up to 2,5 mg/dl (25 mg/l) and heparin up to 20 U/ml. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

**d) Stability and storage instructions:** sample should be fresh. In case it cannot be processed immediately, the sample may be stored for up to 12 hours at room temperature (< 25°C), for up to 3 days at 2-10°C, or for up to 30 days at -20°C.

## REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Water bath at the temperature indicated under PROCEDURE.
- Stopwatch.

## ASSAY CONDITIONS

(Increase of Absorbance)

- Wavelength: 340 nm (Hg 334 or 366).
- Reaction temperature: 25, 30 or 37°C.
- Reaction time: 10 minutes
- Sample and reagent volumes: may vary proportionally (e.g. 40 ul sample + 1 ml reconstituted Reagent A or 20 ul sample + 500 ul reconstituted Reagent A).

### PROCEDURE

Set the instrument to zero O.D. with distilled water. See INDICATIONS OF INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS. In a cuvette at the selected temperature (25, 30 or 37°C) place:

<b>Reconstituted Reagent A</b>	2.5 ml
--------------------------------	--------

Pre-incubate a few minutes. Then add:

<b>Sample</b>	100 ul
---------------	--------

Mix immediately by inversion. Wait 5 minutes. Adjust absorbance to a reference reading and simultaneously start stopwatch. Measure absorbance every minute during 5 minutes. Determine average change in Absorbance/min ( $\Delta A/\text{min}$ ), subtracting each reading from the previous one and averaging these values. Use this mean for calculations.

## CALCULATIONS

CK MB U/l =  $\Delta A/\text{min}$  x factor

Measure at 340 nm: CK-MB (U/l) =  $\Delta A/\text{min}$  x 4,127

Measure at Hg 334: CK-MB (U/l) =  $\Delta A/\text{min}$  x 4,207

Measure at Hg 366: CK-MB (U/l) =  $\Delta A/\text{min}$  x 7,429

The calculation factors above mentioned, already include the correction needed to convert the value of CK-B into CK-MB.

## QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is run, analyze two levels of a quality control material (**CK-MB Control**) with known CK-MB activity.

## REFERENCE VALUES

Temperature	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(2)</sup>	37°C <sup>(2)</sup>
Values	10 U/l	16 U/l	25 U/l

<sup>(1)</sup> Stein, W. - Med. Welt. 36:572, 1985.

<sup>(2)</sup> Calculated values

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

## INTERPRETATION OF RESULTS

A high probability of myocardial damage exists if the following conditions are simultaneously met:

1- Total CK activity exceeds the following normal ranges:

Temperature	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(2)</sup>	37°C <sup>(3)</sup>
Men	10-80 U/l	15-130 U/l	24-195 U/l
Women	10-70 U/l	15-110 U/l	24-170 U/l

<sup>(1)</sup> Stein W. - Med. Welt. 1985; 36:572.

<sup>(2)</sup> Szaz G., Busch E.W. - Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June 1979.

<sup>(3)</sup> Calculated

2- CK-MB activity exceeds normal values. See REFERENCE VALUES.

3- The CK-MB percentage in found between the 6-20% of the total CK value.

If the percentage is below 6% there is probably damage to the skeletal muscle. If the percentage is over 20% of the total CK value the presence of a macro kind of CK (atypical CK) which is not inhibited by the anti CK-M antibodies, can be suspected. The atypical CK presence may be determined by:

a) Isoenzyme persistence for more than 48 hours (the CK-MB decays approximately at 30-48 hours after the onset of the infarction).

b) Stability when treating the sample at 40°C during 20 minutes.

c) Electrophoretic analysis (a band between MM and MB isoenzymes is obtained).

The possibility of recent infarction exists if myocardial damage is suspected and values are below the normal range. In this case repeat the assay after 4 hours.

## PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

Samples with total CK activity over 1000 U/l (at 25°C) or over 2000 U/l (at 37°C), should be diluted with saline solution (0.9% sodium chloride). The obtained result should be multiplied by the dilution performed.

## PERFORMANCE

The assays were performed in Express plus analyzer<sup>(\*)</sup>. If the kit is performed using manual procedure, user must validate that similar performed to that stated below is obtained.

**a) Reproducibility:** processing according to EP5A protocol of NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), the following values were obtained:

### Within-run precision

Level	S.D.	C.V.
39.5 U/l	± 0.6 U/l	1.44 %
183.4 U/l	± 1.9 U/l	1.05 %

### Total-run precision

Level	S.D.	C.V.
39.5 U/l	± 0.8 U/l	1.90 %
183.4 U/l	± 2.6 U/l	1.39 %

**b) Analytical sensitivity:** 7.1 U/l.

**c) Linearity:** reaction is linear up to 350 U/l. For higher values, dilute the sample with saline solution, repeat the determination and multiply the obtained result according to the dilution factor.

**d) Correlation:** CK-MB values of 84 specimens were determined using **CK-MB DS UV unitest** and a commercial kit of the same methodology. Correlation coefficient with serum and plasma samples was:

$r = 0.9985$ , slope  $b = 0.9779$  and intercept was  $a = -1.5464$ .

## PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user's manual of the autoanalyzer in use.

## WIENER LAB. PROVIDES

- 28 vials x 2.5 ml + 2 Control Sera c.s. 1 ml (Cat. N° 1271354).

## REFERENCES

- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- I.F.C.C. - Clínica Chimica Acta 105:147F (1980).
- Wu, A.; Bowers, G. - Clin. Chem. 28/10:2017 (1982).
- Gerhardt, W.; Waldenstrom, J. - Clin. Chem. 28:277 (1982).
- Würzburg, U. et al. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15:131 (1977).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Saunders Co., 3<sup>rd</sup> ed (1999). Chemistry, Brighton, England, 3-8. June 1979 (Abstract).
- National Committee for Clinical Chemistry Standards (NCCLS). Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).
- Stein W. Med Welt; 36:572 (1985).
- Szasz G, Busch EW. Third European Congress of Clinical

## SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

 This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

 Authorized representative in the European Community

 "In vitro" diagnostic medical device

 Contains sufficient for <n> tests

 Use by

 Temperature limitation (store at)

 Do not freeze

 Biological risks

 Volume after reconstitution

 Contents

 Batch code

 Manufactured by:

 Harmful

 Corrosive / Caustic

 Irritant

 Consult instructions for use

 Calibrator

 Control

 Positive Control

 Negative Control

 Catalog number



# CK-MB<sub>DS</sub> UNIM

unitest

**MONOKLONALNY**

Nr kat. 1271354

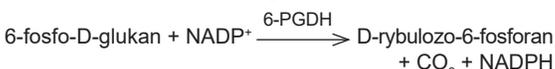
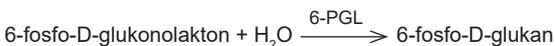
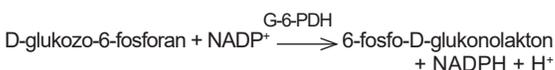
Metoda UV o podwójnej czułości (ang. Double Sensitivity - DS) do oznaczania poziomu kinazy kreatynowej izoenzymu MB w surowicy krwi lub w osoczu przeciwciałami monoklonalnymi anty CK-M

## WSTĘP

Kinaza kreatynowa (CK) jest enzymem mięśni złożonym z podjednostki M (mięsień) oraz podjednostki B (brain - ang. mózg), które łączą się ze sobą tworząc następujące izoenzymy CK-MM w mięśniach, CK-BB w mózgu oraz CK-MB w mięśniu sercowym. Poziom CK i CK-MB w surowicy jest wskaźnikiem uszkodzenia mięśnia serca. Po ostrym zawale mięśnia sercowego, w ok. 55% przypadków szczytowy poziom aktywności CK i CK-MB pojawia się równocześnie, natomiast u 45% najwyższy wzrost CK-MB wyprzedza wzrost całkowitego CK.

## ZASADA DZIAŁANIA

Po wstępnej reakcji przeciwciał monoklonalnych z podjednostką CK-M, która zachodzi zarówno z podjednostkami CK-M izoenzymu MM jak i CK-MB zachodzą następujące reakcje:



Zastosowanie 6-fosfo-D-glukonolaktanazy (6-phospho-D-gluconolactonase 6-PGL) oraz dehydrogenazy 6-fosfoglukonolitanowej (6-phosphogluconate dehydrogenase 6-PGDH) zwiększa czułość przez uwalnianie kolejnych cząsteczek NADPH do reakcji co stwarza możliwość podwojenia wskaźnika. Ponieważ izoenzym CK-BB pojawia się rzadko w surowicy i aktywność katalizy podjednostek CK-M oraz CK-B znacząco się różnią, katalityczna aktywność izoenzymu CK-MB może zostać obliczona poprzez pomiar aktywności CK-B i pomnożenie przez 2.

HK: hexokinase (heksokinaza)

G-6-PDH: glucose-6-phosphate dehydrogenase (dehydrogenaza glukoza-6-fosforanowa)

6-PGL: 6-phospho-D-gluconolactonase (6-fosfo-D-glukonolaktanaza)

6-PGDH: 6-phosphogluconate dehydrogenase (dehydrogenaza 6-fosfoglukonolitanowa)

ATP/ADP: adenosine 5' tri/diphosphate (adenozynotrój/dwu-fosforan)

NADH: nicotinamide-adenine dinucleotide (reduced) (dwunukleotyd nikotynoamidoadeninowy) (zredukowany)

NAD<sup>+</sup>: nicotinamide-adenine dinucleotide (dwunukleotyd nikotynoamidoadeninowy)

## DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** pojedyncze fiolki zawierające wystarczającą ilość aby otrzymać następujące stężenia po jednej próbie odzysku:

fosforan kreatyniny	30 mmol/l
ADP	2 mmol/l
Glukoza	20 mmol/l
NADP	2 mmol/l
Heksokinaza (HK)	≥ 2 500 U/l
dehydrogenaza glukoza-6-fosforanu (G-6-PDH)	≥ 2 000 U/l
Octan magnezu	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
Dwu (adenozyno-5') pentozofosforan	10 umol/l
N-acetylo-cysteina (NAC)	20 mmol/l
6-fosfoglukonolaktanaza (6-PGL)	≥ 200 U/l
Dehydrogenaza 6-P-glukonolitanu (6-PGDH)	≥ 400 U/l
Monoklonalne przeciwciała są zdolne do związania CK-M (w temp. 25°C) lub 2000 U/l CK-M (w temp. 37°C).	1000 U/l

**B. Odczynnik B:** 100 mmol/l roztworu buforu imidazolowego, pH 6,7.

**Próba kontrolna:** próbówka zawierająca liofilizowaną ludzką CK-MB (patrz załączona tabela teoretycznych wartości).

## INSTRUKCJA UŻYCIA

**Odczynnik A:** dodać 2,5 ml Odczynnika B. Zamknąć i wymieszać do całkowitego rozpuszczenia.

**Odczynnik B:** gotowy do użycia.

**Próba kontrolna:** otworzyć ostrożnie fiolkę unikając utraty materiału. Odmierzyć pipetą dokładnie 1 ml destylowanej wody. Zamknąć i odczekać 5 min. Rozpuścić całkowicie zawartość próbówki przez odwrócenie. Przygotowana próba kontrolna CK-MB jest traktowana tak samo jak nieznaną materiał badany.

## OSTRZEŻENIA

Odczynniki wyłączanie do użycia in vitro.

Bufor zawiera azydek. Nie przyjmować doustnie. Unikać kontaktu ze skórą i spojówkami. W razie kontaktu spłukać obficie wodą. Próba kontrolna została przebadana i znaleziono niereagujący na HIV, HCV i HBV Jednak powinna być traktowana jako materiał zakaźny. Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

## TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

**Dostarczone odczynniki:** trwałe w lodówce w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

**Rozpuszczony Odczynnik A:** trwały w lodówce w temperaturze 2-10°C przez 7 dni od daty odzyskania.

**Rozpuszczona próba kontrolna:** trwały w lodówce w temperaturze 2-10°C przez 3 dni lub 3 miesiące w zamrażarce (-20°C). Nie poddawać powtórnemu zamrożeniu.

## BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Nieprowadzenie w uzyskaniu wartości kontrolnych w określonym zakresie może wskazywać na pogorszenie odczynnika, który nie powinien być używany. Ponadto gdy spektrofotometr ustawiony na zero przy wodzie destylowanej wskazuje absorbancję odzyskanego Odczynnika A powyżej 0,800 O.D. (przy 340 nm) wskazuje to również na pogorszenie jakości.

## MATERIAŁ BADANY

Surowica lub osocze

a) **Pobranie:** otrzymać w klasyczny sposób.

b) **Substancje dodatkowe:** dla osocza należy zastosować heparynę lub EDTA jako antykoagulant. Wiener lab. zaleca Anticoagulant W Wiener lab.

c) **Znane interakcje:** osocze z widoczną lub znaczną hemolizą nie powinno być zastosowane ze względu na możliwość fałszywie dodatnich podwyższonych wartości. Nie obserwowano żadnych interakcji z hemoglobina do 50 mg/dl, bilirubina do 2,5 mg/dl (25 mg/l) oraz heparyną do 20 U/ml. Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie

d) **Trwałość i instrukcja przechowywania:** materiał powinien być świeży. W przypadku braku możliwości natychmiastowego przeprowadzenia badania, materiał powinien być przechowywany w temperaturze pokojowej (<25°C) do 12 godzin, w lodówce (2-10°C) do 3 dni, w zamrażarce (-20°C) do 30 dni.

## WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczany)

- Spektrofotometr,
- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości,
- Łażnia wodna o temperaturze wskazanej w PROCEDURZE,
- Stoper.

## WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

(Zwiększenie absorbancji)

- Długość fali: 340 nm (Hg 334 lub 366).
- Temperatura reakcji: 25, 30 lub 37°C.
- Czas reakcji: 10 min.
- Objętości materiału i odczynników mogą się różnić proporcjonalnie (np. 40 ul materiału + 1 ml odzyskanego Odczynnika A lub 20 ul materiału + 500 ul odzyskanego Odczynnika A).

### PROCEDURA

Ustawić aparat na zero O.D. na wodzie destylowanej. Patrz WSKAZÓWKI O BRAKU TRWAŁOŚCI LUB POGORSZENIU JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW. Umieścić w kuwecie o wybranej temperaturze (25, 30 lub 37°C):

**Rozpuszczony Odczynnik A** 2,5 ml

Pre-inkubować przez kilka minut następnie dodać:

**Materiał** 100 ul

Natychmiast mieszać przez odwrócenie i poczekać 5 min. Następnie nastawić absorbancję do właściwych odczytów i równocześnie włączyć stoper. Odnotować absorbancję co każde 5 min.

Określić średnią zmianę absorbancji Absorbancja/min ( $\Delta A/\text{min}$ ), odejmując każdy odczyt od poprzedniego i obliczyć średnią wartość. Użyć średniej do obliczeń.

## OBLICZENIA

CK MB U/l =  $\Delta A/\text{min}$  x współczynnik

Pomiar przy 340 nm: CK-MB (U/l) =  $\Delta A/\text{min}$  x 4127

Pomiar przy Hg 334: CK-MB (U/l) =  $\Delta A/\text{min}$  x 4207

Pomiar przy Hg 366: CK-MB (U/l) =  $\Delta A/\text{min}$  x 7429

Obliczenia współczynników powyżej wymienionych zawierają już niezbędną poprawkę na konwersję wartości CK-B do CK-MB

## METODA KONTROLI JAKOŚCI

Za każdym razem gdy przeprowadzane jest badanie należy przeprowadzić próbę kontroli jakości na dwóch poziomach z materiałem (CK-MB Control) przy znanym poziomie aktywności CK-MB.

## WARTOŚCI REFERENCYJNE

Temperatura	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(2)</sup>	37°C <sup>(2)</sup>
Wartości	10 U/l	16 U/l	25 U/l

<sup>(1)</sup> Stein, W. - Med. Welt. 36:572, 1985.

<sup>(2)</sup> Wartości obliczone

Zaleca się ustalenie wartości referencyjnych dla każdego laboratorium.

## INTERPRETACJA WYNIKÓW

Istnieje wysokie prawdopodobieństwo uszkodzenia mięśnia sercowego jeżeli równocześnie następujące warunki są spełnione. 1- Całkowita aktywność CK przekracza następujące zakresy norm:

Temperatura	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(2)</sup>	37°C <sup>(3)</sup>
Mężczyźni	≤ 80 U/l	≤ 130 U/l	≤ 195 U/l
Kobiety	≤ 70 U/l	≤ 110 U/l	≤ 170 U/l

<sup>(1)</sup> Stein W. - Med. Welt. 1985; 36:572.

<sup>(2)</sup> Szaz G., Busch E.W. - Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June 1979.

<sup>(3)</sup> Obliczone wartości

2- Aktywność CK-MB przekracza wartości normatywne. Patrz WARTOŚCI REFERENCYJNE.

3- Procent CK-MB występuje w zakresie 6-20% całkowitej wartości CK.

Jeżeli wartość procentowa spada poniżej 6% mamy prawdopodobnie do czynienia z uszkodzeniem mięśni szkieletowych. Jeżeli wartość procentowa wynosi powyżej 20% całkowitej wartości CK podejrzewamy obecność atypowej CK (o dużych rozmiarach) która nie jest wyłapywana przez przeciwciała anty CK-M.

Obecność atypowej CK może zostać określona poprzez:

- Utrzymanie materiału dłużej niż 48 godzin (CK-MB ulega rozpadowi ok. 30-48 godzin po pojawieniu się ogniska zawału).
- Utrzymanie trwałości gdy proces przeprowadza się w temperaturze 40°C w ciągu 20 minut.
- Elektroforezę (zakres pomiędzy izoenzymami MM oraz MB). Istnieje możliwość świeżego zawału przy podejrzeniu uszkodzenia mięśnia serca i wartościach poniżej zakresu normy. W tym przypadku należy powtórzyć badanie po 4 godzinach.

## OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz Znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ.

Materiał z aktywnością całkowitą CK ponad 1000 U/l (przy temp. 25°C) lub powyżej 2000 U/l (przy temp. 37°C), powinien zostać rozcieńczony solą fizjologiczną (0,9% roztworu chlorku sodu). Otrzymane wyniki powinny zostać pomnożone przez wartość wykonanych rozcieńczeń.

## CHARAKTERYSTYKA TESTU

Badanie zostało przeprowadzone w analizatorze Express plus<sup>(\*)</sup>. Przy zastosowaniu zestawu do procedury ręcznej laborant musi ocenić i porównać aby otrzymane wyniki były podobne do naznaczonych poniżej:

**a) Powtarzalność:** wykonano zgodnie z protokołem EP5A NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), i otrzymano następujące wyniki:

### Dokładność w trakcie badania

Poziom	S.D	C.V.
39,5 U/l	± 0,6 U/l	1,44 %
183,4 U/l	± 1,9 U/l	1,05 %

### Dokładność całkowita

Poziom	S.D.	C.V
39,5 U/l	± 0,8 U/l	1,90 %
183,4 U/l	± 2,6 U/l	1,39 %

**b) Czułość analityczna:** 7,1 U/l.

**c) Linijność:** reakcja jest liniowa do poziomu 350 U/l. Dla wyższych wartości należy rozcieńczyć materiał solą fizjologiczną a następnie wykonać ponownie badanie i pomnożyć wyniki o ilość rozcieńczeń.

**d) Korelacja:** wartości CK-MB w 84 próbkach zostały określone przez zastosowanie CK-MB DS UV unitest oraz podobnego zestawu rynkowego opartego na tej samej metodologii. Współczynnik korelacji dla surowicy i osocza wynosił:  $r = 0,9985$ , współczynnik regresji (slope)  $b = 0,9779$  oraz wyraz wolny (intercept)  $a = 1,5464$ .

## PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem programowania danego analizatora automatycznego.

## WIENER LAB. DOSTARCZA

- 28 fiolek x 2,5 ml + 2 Kontrolne surowice c.s. 1 ml (Nr kat. 1271354).

## ŹRÓDŁA

- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- I.F.C.C. - Clínica Química Acta 105:147F (1980).
- Wu, A.; Bowers, G. - Clin. Chem. 28/10:2017 (1982).
- Gerhardt, W.; Waldenstrom, J. - Clin. Chem. 28:277 (1982).
- Würzburg, U. et al. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15:131 (1977).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Saunders Co., 3<sup>rd</sup> ed (1999).
- National Committee for Clinical Chemistry Standards (NCCLS). Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).
- Stein W. Med Welt; 36:572 (1985).
- Szasz G, Busch EW. Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8. June 1979 (Abstract).

## Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed

 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość

 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa

 Substancja żrąca

 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Tec.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
Cert. N°: 1621/96



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina