

CONTINUT

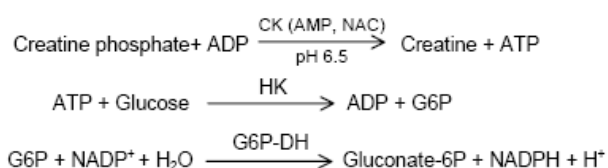
REF 1121005 CK-MB 1 x 25 mL

Numai pentru diagnostic *in vitro***CK-MB**
Creatinkinaza

PRINCIPIUL

Activitatea Ck in ser importante este datorata izoenzimelor CK-MM si CK-MB. Acestea se gasesc in principal in musculatura scheletica si in miocard. CK-BB este prezent uzual in ser in concentratii mici.

Ambele enzime ale CK sunt dimeri formati din asocierea a doua subunitati din celulele musculare M si celulele nervoase, B. Imunoinhibarea de la un anticorp specific celor doua unitati MM si unitatea singulara M din CK-MB permite determinarea unitatii B. Activitatea CK-B corespunde la jumatatea din activitatea CK-MB si este determinata prin cresterea ratei de absorbtie rezultat din urmatoarele reactii:



CONSTITUENTI SI COMPOZITIE

R1 : Buffer/Glucose/NAC. Imidazol buffer 100 mmol/L pH 6.7, glucose 20 mmol/L, NAC 20 mmol/L, magnesium acetate 10 mmol/L, NADP 2.5 mmol/L, HK ≥ 4 KU/L, EDTA 2 mmol/L.

R2 Substrate/Coenzymes. CP 30 mmol/L, AMP 5 mmol/L, ADP 2 mmol/L, di(adenosine-5') pentaphosphate 10 μ mol/L, G6PDH ≥ 1.5 KU/L. Sufficient CK-M human antibody to inhibit ≥ 3000 U/L of CK-MM at 37°C.

PASTRARE SI STABILITATE

Se pastreaza la temperaturi de 2-8°C.

Reactivii sunt stabili pana la data de valabilitate scrisa pe eticheta.

PREPARAREA REACTIVULUI

Reactiv de lucru. Amestecati 4 ml de R1 + 1 ml R2.

Amestecul este stabil timp de o luna la o temperatura de 2-8°C, sau 1 zile la 16-25°C la intineric.

Aruncati reactivul daca prezinta o absorbanta mai mare de 0.300 la 340 nm data de apa distilata sau nu se ating valorile cu serul de control.

PROBE

Ser. Stabil 8 zile la 2-8°C sau o luna, congelat la -20 °C. Raciti probele cat mai repede dupa recoltare. Probele hemolizate usor sau sever nu sunt adecvate testarii, la fel ca si plasma cu EDTA, heparina, citrate sau floruri deoarece pot declansa reactii chimice nepredictibile.

INTERFERENTE

- A fost identificat un numar de medicamente ce interfereaza cu CK, prezentate in referinta 3. Metoda determina orice cantitate de CK-MB prezenta in ser. Activitatea acestora este usual neglijabila.

MATERIALE DE LUCRU

- Fotometru sau colorimetru cu celula de citire termostata capabil sa citeasca absorbanta la 340 nm
- Termostat de laborator cu temperatura de 37°C
- Ceas de laborator
- Cuveta cu drum optic de 1 cm
- Pipete pentru masurarea reactivilor si probelor

METODA DE LUCRU

A. Determinarea activitatii CK totale

Determinati activitatea totala a CK –NAK la 37°C utilizand trusele 112003 sau 112005 de la Linear Chemicals.

Probele cu activitati ,ao mari de 2000U/L trebuie diluate 1:10 cu o solutie salina si retestate. Inmultiti rezultatele obtinute cu 10.

B. Determinarea activitatii CK-B*Sample starter*

Determinarea activitatii CK-B la 37°C

1. Se seteaza fotometrul la o absorbanta cu valoarea 0 cu ajutorul apei distilate.
2. Pipetati intr-o cuveta:

Reactiv de lucru	1.0 mL
------------------	--------

Proba sau control	40uL
-------------------	------

3. Amestecati usor prin inversie. Puneti cuvetele intr-un stativ si porniti cronometrul.
4. Incubati pentru 5 minute si notati absorbanta initiala.
5. Repetati citirile de absorbanta exact la 1, 2, si 3 minute.
6. Calculati diferenta intre absorbante si mediatii rezultatele pentru obtinerea mediei variatiei absorbantei pe minut (delta A / minut)

Substrate starter

Determinarea activitatii CK-B la 37°C

1. Se seteaza fotometrul la o absorbanta cu valoarea 0 cu ajutorul apei distilate.
2. Pipetati intr-o cuvetă

R2	250 uL
Proba sau control	50uL
3. Amestecati. Incubati 2 minute si adaugati

R1	1.0 mL
-----------	---------------
4. Incubati pentru 5 minute si cititi absorbanta initiala.
5. Repetati citirile de absorbanta dupa 1,2 si 3 minute.
6. Calculati diferentele absorbantelor si faceti media variatiei absorbantei in unitatea de timp, pentru obtinerea variatiei medii a absorbantei (delta A /minut)

CALCULE

Activitate CK totala U/L =delta A * 8095 (37°C)

Activitate CK-B U/L =delta A * 4180

Inmultiti activitatea CK-B cu 2 pentru abtinerea rezultatului activitatii CK-MB.

Calcululele sunt comune pentru ambele proceduri.

Procentajul activitatii CK-MB

Activitate CK-MB
----- x 100 = % activitate CK-MB
Activitate CK total

VALORI DE REFERINTA

Domeniul normal de valori pentru activitatea CK-MB in ser, la adulti, este considerat de la 2.0 U/L la 19.5 U/L la 37 °C. La noulascuti si copii se intalnesc valori ale CK-MB mai mari decat la adulti.

Daca raportul dintre CK-MB si CK total mai mare de 4% trebuie considerat suspect, iar daca este mai mare de 10 % se considera infart miocardic acut.

Cand cele 3 conditii de mai jos sunt indeplinite, probabilitatea unui infart miocardic este foarte mare.

Conditia	Temperatura testare 37 ° C	
1	CK barbati	>190 U/L (3.17 ukat/L)
	CK femei	>167U/L (2.78 ukat/L)
2	CK-MB	>24U/L (0.40 ukat/L)
3	% CK-MB	6-25 %

Eset recomandabil ca fiecare laborator sa-si stabileasca propriile valori de referinta

CONTROL DE CALITATE

Folosirea unui standard pentru a calcula rezultatele permit obtinerea unor rezultate corecte independente de system sau de instrumentalul folosit.

1980005 MULTISER UMAN NORMAL

1985005 MULTISER UMAN PATOLOGIC

SEMNFICATIA MEDICALA

Aplicatia majora a determinarii activitatii CK-MB la adulti este diagnosticul infartului miocardic acut (IMA) sau in diferentiarea afectarii miocardului fata de o afectare a musculaturii scheletice. CK-MB este considerat ca unul dintre cei mai buni indicatori ai IMA . Determinarea CK-MB in intervalul de timp util dupa infarct , "fereastra" de la 10 la 24 ore este foarte utila in stabilirea gradului de afectare si in eficacitatea tratamentului.

PERFORMANTELE ANALIZEI

- **Linearitate.** Pana la 330 U/L
- **Precizie**
-

U/L	INTRA-test *			INTRE teste**		
Media	16.3	56.3	96.7	16.1	53.5	98.5
DE	0.32	0.64	1.072	0.33	1.46	1.37
CV%	1.96	1.14	1.1	2.04	2.73	1.4
N	10	10	10			

*Replicati: 10 pentru fiecare nivel

Instrument: COBAS MIRA

**Replicati: 10 pentru fiecare nivel timp de 6 zile

-**Sensibilitate.** Folosind acest reactiv si metoda ΔA/min din 0.001 citit la 340 nm este echivalentul a 4.1 U/L de activitate CK-MB

-**Corelare:** Aceasta analiza (y) a fost comparata cu o metoda similara comerciala (x). Rezultate obtinute:

$$N = 25 \quad r = 0.997 \quad y = 0.958X - 0.55$$

REFERINTE

1. Gerhardt and Waldenstrom, G. Clin. Chem. 25 : 127 (1976).
2. Lang, H, and Würzburg, U. Clin. Chem. 28 : 1439 (1982).
3. German Society for Clinical Chemistry: Recommendations of the Enzyme Commision. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15 : 255 (1977).
4. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4 th Edition. AACCC Press (1995).
5. Wu, A.H.B. and Bowers, G.N, Jr. Clin. Chem. 28, 2017 (1982).
6. Stein, W. Med. Welt. 36 : 572 (1985).