

IMMULITE®

CK-MB

For use on the IMMULITE®
and IMMULITE® 1000 systems

DPC®

IMMULITE®/IMMULITE® 1000 CK-MB

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB) in heparinized plasma or serum, as an aid in patient management and the assessment of prognosis of myocardial infarction.

Catalog Number: **LKMB1** (100 tests), **LKMB5** (500 tests)

Test Code: **CMB** Color: **Dark Blue**

Summary and Explanation

Creatine kinase (CK) is an enzyme, found primarily in muscle and brain tissue, which exists as three dimeric isoenzymes — CK-MM (CK-3), CK-MB (CK-2), and CK-BB (CK-1) — built from subunits designated M and B. The CK-MB isoenzyme, which has a molecular mass of approximately 87,000 daltons, accounts for 5 to 50% of total CK activity in myocardium. In skeletal muscle, by contrast, it normally accounts for just 1% or less, CK-MM being the dominant form, though the percentage can be as high as 10% in conditions reflecting skeletal muscle injury and regeneration (e.g. severe exercise, muscular dystrophy, polymyositis).²

CK-MB is one of the most important myocardial markers (in spite of not being altogether cardiac-specific), with well-established roles in confirming acute myocardial infarction (AMI) and in monitoring reperfusion during thrombolytic therapy following AMI.²

In AMI, plasma CK-MB typically rises some 3 to 8 hours after the onset of chest pains, peaks within 9 to 30 hours, and returns to baseline levels within 48 to 72 hours.¹⁵ The pattern of serial CK-MB determinations is more informative than a single determination: one CK-MB measurement, even when taken at an appropriate time, cannot definitively confirm or rule out the occurrence of AMI. High levels might reflect skeletal injury rather than myocardial damage. A value within the reference range might be significant if it represents an

increase from the patient's baseline level. (Low baseline levels are sometimes encountered in the elderly.) Accordingly, it has been recommended that CK-MB be measured on admission to the emergency room, and at intervals thereafter: for example, at 3-hour intervals over a 6- to 9-hour period in patients with nonspecific electrocardiogram changes;^{5,2} or at 6- to 8-hour intervals over a 24-hour period and more frequently if thrombolytic therapy has been instituted.²

Thrombolytic therapy, if successful, leads to an "enzyme washout" evidenced by a sharp increase in circulating CK-MB levels as early as 90 minutes after the initiation of therapy.² Accordingly, serial CK-MB levels have been used in this context to assess reperfusion.

Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 CK-MB is a chemiluminescent enzyme-labeled immunometric assay, based on ligand-labeled anti-CK-MB monoclonal antibody and separation by anti-ligand-coated solid phase. The bound CK-MB complex — and thus also the photon output, as measured by the luminometer — is proportional to the concentration of CK-MB in the sample.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes.

Specimen Collection

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Icteric or grossly contaminated samples may give erroneous results.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE/IMMULITE 1000 CK-MB has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 50 μ L heparinized plasma or serum. (Sample cup must contain at least 100 μ L more than the total volume required.)

Storage: 24 hours at 2–8°C, or 30 days at –20°C

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

Note that the antibodies to CK-MB used in the IMMULITE CK-MB procedure are licensed from Washington University.

CK-MB Test Units (LMB1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with anti-ligand. Stable at 2–8°C until expiration date.

LKMB1: 100 units. **LKMB5:** 500 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

CK-MB Reagent Wedge (LMB2)

With barcode. 7.5 mL ligand-labeled anti-CK-MB murine monoclonal antibody and alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to murine monoclonal anti-CK-BB antibody in buffer, with preservative. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

LKMB1: 1 wedge. **LKMB5:** 5 wedges.

CK-MB Adjustors (LMBL, LMBH)

Two vials (Low and High) of lyophilized CK-MB in a nonhuman serum matrix, with preservative. At least 30 minutes before use, reconstitute each vial by adding 4.0 mL distilled or deionized water. Mix by *gentle swirling* or inversion. Aliquot and freeze after reconstitution: stable for 2 months (aliquotted) at –20°C.

LKMB1: 1 set. **LKMB5:** 2 sets.

Kit Components Supplied Separately

CK-MB Sample Diluent (LMBZ)

For the manual dilution of patient samples. One vial containing 25 mL of a CK-MB-free nonhuman serum matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LSUBX: Chemiluminescent Substrate

LPWS2: Probe Wash Module

LKPM: Probe Cleaning Kit

LCHx-y: Sample Cup Holders (barcoded)

LSCP: Sample Cups (disposable)

LSCC: Sample Cup Caps (optional)

CCCM: Cardiac Marker Control Module containing CK-MB

Also Required

Sample transfer pipets, distilled or deionized water, controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine

maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of CK-MB.

Expected Values

A reference range study was conducted on serum samples from 171 apparently healthy laboratory volunteers. This population yielded a median value of 0.9 ng/mL, an upper 97.5th percentile of 3.5 ng/mL, and an upper 99th percentile of 5.3 ng/mL.

A second study was conducted on serum samples from the following population categories:

- 68 patients, hospitalized for non-cardiac related conditions
- 11 non-AMI emergency department patients with chest pain
- 12 non-trauma emergency department patients, with no evidence of cardiovascular disease.

This population of 91 samples yielded a median value of 2.0 ng/mL, with an upper 97.5th percentile of 5.7 ng/mL and an upper 99th percentile of 7.3 ng/mL.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitation

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1998;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum

products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL.

Calibration Range: Up to 500 ng/mL

Analytical Sensitivity: 0.6 ng/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 50,000 ng/mL.

Intraassay Precision (Within-Run):
Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

Interassay Precision (Run-to-Run):
Statistics were calculated for samples assayed in 20 different runs. (See "Interassay Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three CK-MB solutions (1,660, 3,420 and 7,080 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for CK-MB, with particularly low crossreactivity to other creatine kinase isoenzymes (see "Specificity" table).

Bilirubin: May cause a decrease in values. (See "Bilirubin" table.)

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 μ L/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: To determine whether serum can be used in the IMMULITE CK-MB procedure, blood was collected from 5 laboratory volunteers into heparinized and plain vacutainer tubes. All samples were spiked with CK-MB and then assayed by the IMMULITE CK-MB procedure, with the following results.

(Serum) = 0.99 (Heparin) – 1.4 ng/mL
r = 1.00

Means:

160 ng/mL (Heparin)
158 ng/mL (Serum)

Method Comparison 1: The assay was compared to DPC's IMMULITE CK-MB (LKCP) on 190 plasma and serum patient samples. (Concentration range: up to approximately 500 ng/mL. See Method Comparison 1 graph.) By linear regression:

(LKMB) = 1.04 (LKCP) – 0.6 ng/mL
r = 0.993

Means:

38.7 ng/mL (LKMB)
37.9 ng/mL (LKCP)

Method Comparison 2: The assay was compared to an immunoradiometric assay (Kit A) on 106 plasma samples. (Concentration range: approximately 1 to 56 ng/mL. See Method Comparison 2 graph.) By linear regression:

(IML) = 0.91 (Kit A) + 1.2 ng/mL
r = 0.96

Means:

5.6 ng/mL (IMMULITE)
6.3 ng/mL (Kit A)

References

- 1) Adams JE, Schechtman KB, Landt Y, et al. Comparable detection of acute myocardial infarction by creatine kinase MB isoenzyme and cardiac troponin I. Clin Chem 1994;40:1291-5.
- 2) Apple FS, Preese LM. Creatine kinase-MB: detection of myocardial infarction and monitoring reperfusion. J Clin Immunoassay 1994;17:24-9.
- 3) Bhayana V, Cohoe S, Leung FY, et al. Diagnostic evaluation of creatine kinase-2 mass and creatine kinase-3 and -2 isoform ratios in early diagnosis of acute myocardial infarction. Clin Chem 1993;39:488-95.
- 4) Bruns DE. Diagnosis of acute myocardial infarction when skeletal muscle damage is present: a caveat regarding use of creatine kinase isoenzymes. Clin Chem 1989;35:705.
- 5) Gibler WB, Lewis LM, Erb RE, et al. Early detection of acute myocardial infarction in patients presenting with chest pain and nondiagnostic ECGs; serial CK-MB sampling in the emergency department. Ann Emerg Med 1990;19:1359-66.
- 6) Henderson AR, Stark JA, McQueen MJ, et al. Is determination of creatine kinase-2 after electrophoretic separation accurate? Clin Chem 1994;40:177-83.
- 7) Kallner A, Sylven C, Brodin U, et al. Early diagnosis of acute myocardial infarction; a comparison between chemical predictors. Scand J Clin Lab Invest 1989;49:633-9.
- 8) Kiyasu Y. John. Current status of detecting CK-MB for patient

management. Am Clin Prod Rev 1985;4:29-31.

- 9) Lang H, Wuerzburg U. Creatine kinase, an enzyme of many forms. Clin Chem 1982;28:1439-47.
- 10) Lee KN, Csako G, Bernhardt P, Elin R.J. Relevance of macro creatine kinase type 1 and type 2 isoenzymes to laboratory and clinical data. Clin Chem 1994;40:1278-83.
- 11) Lee TH, Rouan GW, Weisberg MC, et al. Sensitivity of routine clinical criteria for diagnosing myocardial infarction within 24 hours of hospitalization. Ann Intern Med 1987;106:181-6.
- 12) Panteghini M. Creatine kinase MB isoforms. J Clin Immunoassay 1994;17:30-4.
- 13) Thompson WG, Mahr RG, Yohannan WS, Pincus MR. Use of creatine kinase MB isoenzyme for diagnosing myocardial infarction when total creatine kinase activity is high. Clin Chem 1988;34:2208-10.
- 14) Vaidya HC. Creatine kinase-MB. Clin Chem News 1988;14:11-2.
- 15) Wong SS. Strategic utilization of cardiac markers for the diagnosis of acute myocardial infarction. Ann Clin Lab Sci 1996;26:301-12.
- 16) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Intraassay Precision (ng/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	15	0.77	5.1%
2	37	1.2	3.2%
3	67	2.5	3.7%
4	83	2.7	3.3%
5	110	4.2	3.8%
6	186	5.9	3.2%
7	306	10.2	3.3%
8	462	14	3.0%

Interassay Precision (ng/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	16	0.8	5.0%
2	36	1.8	5.0%
3	66	3.4	5.2%
4	84	3.3	3.9%
5	109	5.0	4.6%
6	190	9.9	5.2%
7	318	12.4	3.9%

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	16 in 16 ⁵	218	—	—
	8 in 16	100	109	92%
	4 in 16	51	55	93%
	2 in 16	29	27	107%
	1 in 16	15	14	107%
2	16 in 16	248	—	—
	8 in 16	110	124	89%
	4 in 16	57	62	92%
	2 in 16	30	31	97%
	1 in 16	15	16	94%
3	16 in 16	256	—	—
	8 in 16	121	128	95%
	4 in 16	60	64	94%
	2 in 16	31	32	97%
	1 in 16	17	16	107%
4	16 in 16	286	—	—
	8 in 16	140	143	98%
	4 in 16	69	72	96%
	2 in 16	36	36	100%
	1 in 16	19	18	106%

Recovery (ng/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	2.1	—	—
	A	86	85	101%
	B	169	173	98%
2	—	3.0	—	—
	A	87	86	101%
	B	165	174	96%
3	—	6.6	—	—
	A	91	89	102%
	B	185	177	105%
4	—	11	—	—
	A	95	93	102%
	B	189	181	104%

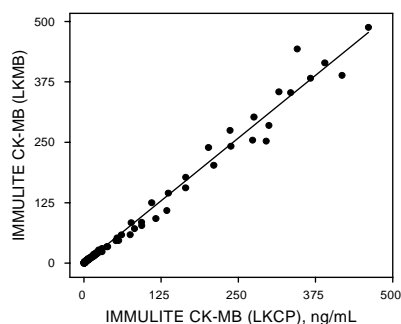
Specificity

Compound ¹	ng/mL Added ²	Apparent ng/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
CK-MM	10,000	< 0.5	ND
	5,000	< 0.5	ND
CK-BB	5,000	0.74	0.015%
	2,500	< 0.5	ND

ND: Not detectable.⁵**Bilirubin**

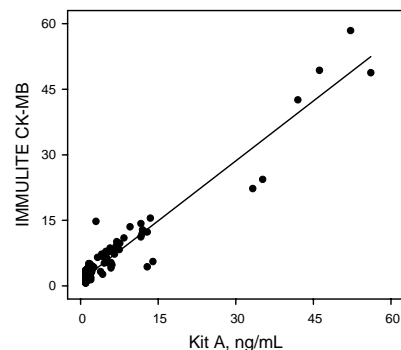
	Unspiked ¹	50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
1	20.5	19.8	19.0	18.4
2	178	169	158	159
3	419	400	397	389

Method Comparison 1



$(LKMB) = 1.04 (LKCP) - 0.6 \text{ ng/mL}$
 $r = 0.993$

Method Comparison 2



$(IML) = 0.91 (\text{Kit A}) + 1.2 \text{ ng/mL}$
 $r = 0.96$

Deutsch. Intraassay Precision: ¹Mittelwert, ²SD (Standardbereich), ³CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** ¹Mittelwert, ²SD (Standardbereich), ³CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Lösung, ²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugewetzte Menge, ³Ausgewiesene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. **Bilirubin:** ¹Ohne Zugabe von **Method Comparison:** CK-MB: CK-MB.

Español. Intraassay Precision: ¹Media, ²DS, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Media, ²DS, ³CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. **Bilirubin:** ¹Sin añadir. **Method Comparison:** CK-MB: CK-MB.

Français. Intraassay Precision: ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée%, ⁵ND: non détectable. **Bilirubin:** ¹Non chargés. **Method Comparison:** CK-MB: CK-MB.

Italiano. Intraassay Precision: ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision:** ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. **Bilirubin:** ¹Semplice, senza aggiunte. **Method Comparison:** CK-MB: CK-MB.

Português. Intraassay Precision: ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Interassay Precision:** ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵8 em 8. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Porcentagem de reação cruzada, ⁵ND: não detectável. **Bilirubin:** ¹Não adicionada. **Method Comparison:** CK-MB: Creatina quinase - MB.

Deutsch

CK-MB – IMMULITE

Anwendung: Zur in vitro Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme — zur quantitativen Bestimmung des Kreatin-Kinase Isoenzym MB (CK-MB) in Heparin-Plasma oder Serum, als Hilfe bei der Patientenbetreuung und bei der Beurteilung der Prognose des Myokardinfarktes.

Artikelnummern:

LKMB1 (100 Tests)

LKMB5 (500 Tests)

Testcode: **CMB** Farbe: **dunkelblau**

Klinische Relevanz

Die Kreatin-Kinase (CK) ist ein hauptsächlich im Muskel- und Hirngewebe vorkommendes Enzym. Es gibt drei dimere Isoenzyme – CK-MM (CK-3),

CK-MB (CK-2) und CK-BB (CK-1), die aus den beiden Untereinheiten M und B aufgebaut sind. Das Isoenzym CK-MB mit einem Molekulargewicht von ca. 87 kDalton für 5 – 50% der totalen CK-Aktivität im Myokard verantwortlich. Im Skelettmuskel ist die CK-MM die Hauptform, während die CK-MB nur etwa 1% der Aktivität ausmacht. Allerdings kann unter bestimmten Bedingungen wie Muskelverletzungen und Regeneration (z. B. starke körperliche Belastung, muskuläre Dystrophie und Polymyositis)² dieser Anteil bis zu ca. 10% ansteigen.

CK-MB ist einer der wichtigsten Myokard-Marker auch unter Berücksichtigung der Tatsache, dass CK-MB nicht herzspezifisch ist. Es ist etabliert in der Bestätigung eines akuten Myokard-Infarktes (AMI) und im Monitoring der thrombolytischen Therapie nach einem AMI.²

Beim AMI steigt der CK-MB Spiegel im Plasma 3-8 Stunden nach den ersten klinischen Anzeichen, der Peak wird nach 9-30 Stunden erreicht und fällt nach 48 – 72 Stunden¹⁵ wieder in den Referenzbereich ab. Die serielle CK-MB Bestimmung ist einer einzelnen Bestimmung vorzuziehen. Mit einer einzelnen CK-MB Messung, auch wenn sie zum richtigen Zeitpunkt durchgeführt wurde, kann ein Herzinfarkt weder bestätigt noch ausgeschlossen werden. Hohe Spiegel können außer beim Herzinfarkt auch bei Skelettmuskelverletzungen auftreten. Ein Wert im Referenzbereich kann von Bedeutung sein wenn ein deutlicher Anstieg vom Ausgangswert vorliegt (sehr niedrige Werte werden häufig bei älteren Patienten gefunden). Deshalb wird eine CK-MB Bestimmung bei Aufnahme des Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten danach empfohlen: z. B. alle drei Stunden über einen Zeitraum von 6–9 Stunden bei Patienten, die keine typischen Anzeichen im EKG zeigen;^{5,2} oder alle 6–8 Stunden über 24 Stunden; häufiger bei einer thrombolytischen Therapie.²

Eine erfolgreiche thrombolytische Therapie führt zu einem sogenannten „Enzyme-Washout“ was zu einer deutlichen Erhöhung des CK-MB Spiegels im Plasma führt. Das Monitoring der CK-MB Spiegel kann deshalb zur Therapiekontrolle verwendet werden.

Methodik

Der IMMULITE/IMMULITE 1000 CK-MB ist ein immunometrischer Festphasen Chemilumineszenz-Enzymimmunoassay, auf der Basis eines Ligand-markierten monoklonalen Antikörpers gegen CK-MB und einer mit einem Anti-Liganden beschichteten Festphase. Der gebundene CK-MB-Komplex - und damit auch das vom Luminometer gemessene Lichtsignal - ist der Konzentration des CK-MB in der Probe direkt proportional.

Inkubationszyklen: 1 × 30 min.

Probengewinnung

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren.

Ikterische oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnungen führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE/IMMULITE 1000 CK-MB sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 50 µl Heparin-Plasma oder Serum. (Inhalt der Probenschale muss mindestens 100 µl

über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

Lagerung: 24 Stunden bei 2–8°C, oder 30 Tage bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat: Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

Bitte beachten Sie, dass die in diesem Assay verwendeten CK-MB Antikörper von der Washington University lizenziert sind.

CK-MB- Testeinheiten (LMB1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine mit Anti-Ligand beschichtete Kugel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

LKMB1: 100 Testeinheiten.

LKMB5: 500 Testeinheiten.

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Zimmertemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante

aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

CK-MB -Reagenzbehälter (LMB2)

Mit Barcode. 7,5 ml ligand-markierte CK-MB Antikörper, (monoklonal, Maus), und mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugierte CK-BB Antikörper (monoklonal, Maus) in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Verschlössen und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Aufbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

LKMB1: 1 Behälter.

LKMB5: 5 Behälter.

CK-MB-Kalibratoren (LMBL, LMBH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem CK-MB in einer nichthumanen Serummatrix, mit Konservierungsmittel. Mindestens 30 Min. vor dem Gebrauch: Fläschchen mit je **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen. Nach Rekonstituierung Aliquotieren und einfrieren: 2 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

LKMB1: 1 Set.

LKMB5: 2 Sets.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

CK-MB-Verdünnungspuffer (LMBZ):

Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen (25 ml) mit CK-MB-freier nichthumaner Serummatrix, mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

LSUBX: Chemilumineszenz-Substrat

LPWS2: Pipettenwaschlösung

LKPM: Pipettenreinigungssset

LCHx-y: Halterungen für die

Probenschalen (mit Barcodierung)

LSCP: Probenschalen (Einwegartikel)

LSCC: Verschlüsse für die Probenschalen (optional)

CCCM: Das Kardiomarker-Kontrollmodul mit CK-MB.

Ebenfalls benötigt
Transferpipetten für die Proben;

destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Hinweise zur Vorbereitung, täglichen Inbetriebnahme des Systems, der Kalibrierung sowie Verfahren zur Test- und Qualitätskontrolle entnehmen Sie bitte dem IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen.

Proben zur Qualitätskontrolle:
Kontrollen oder Poolseren mit CK-MB in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

Eine Referenzwertstudie wurde mittels 171 Serumproben von gesunden Labormitarbeitern durchgeführt. Aus dieser Population wurde ein Median von 0,9 ng/ml, eine obere 97,5 Perzentile von 3,5 ng/ml und eine obere 99 Perzentile von 5,3 ng/ml ermittelt.

Eine weitere Studie wurde mit Serumproben aus nachfolgend aufgeführten Populationen durchgeführt:

68 Krankenhaus-Patienten ohne Herzerkrankungen

11 Patienten aus der Notaufnahme(ohne akuten Myokardinfarkt)mit Brustschmerzen

12 nichttraumatisierte Notfallpatienten ohne Hinweise auf eine kardiovaskuläre Erkrankung.

Diese Gesamtpopulation von 91 Patienten ergab einen Median von 2,0 ng/ml mit einer oberen 97,5 Perzentile von 5,7 ng/ml und einer oberen 99 Perzentile von 7,3 ng/ml.

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor

sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tiereserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als ng/ml ausgedrückt.

Messbereich: Bis 500 ng/ml

Analytische Sensitivität: 0,6 ng/ml

High-Dose-Hook-Effect:
Bis 50 000 ng/ml keiner.

Präzision im einzelnen Testansatz (*intraassay*): Statistik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle „Intraassay-Präzision“).

Präzision zwischen Testansätzen (*interassay*): Statistik aus 20 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle „Interassay-Präzision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearität“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei CK-MB-Lösungen (1 660, 3 420 und 7 080 ng/ml) 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Der IMMULITE CK-MB-Assay ist hochspezifisch für CK-MB mit

vernachlässigbar niedriger Kreuzreaktivität zu anderen Isoformen der Kreatinkinase im Serum. Folgende Kreuzreaktivitäten wurden bestimmt. (Siehe Tabelle "Specificity".)

Bilirubin: Kann eine Erniedrigung der Werte verursachen. (Siehe Tabelle "Bilirubin".)

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternative Probenarten: Um zu untersuchen, ob Serum im IMMULITE CK-MB Assay eingesetzt werden kann, wurde von 5 freiwilligen Labormitarbeitern Blut in Heparin-Röhrchen und in Röhrchen ohne Zusätze gesammelt. Alle Proben wurden mit CK-MB versetzt und dann mit dem CK-MB-Verfahren für den IMMULITE getestet, mit den folgenden Ergebnissen.

(Serum) = 0,99 (Heparin) – 1,4 ng/ml
r = 1,00

Mittelwert:
160 ng/mL (Heparin)
158 ng/mL (Serum)

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde anhand von 190 Serum- und Plasma-Patientenproben mit dem IMMULITE CK-MB Assay (LKCP) der DPC verglichen (Konzentrationsbereich ca. bis 500 ng/ml, Siehe Grafik Methodenvergleich 1.) Durch lineare Regression:

(LKMB) = 1,04 (LKCP) – 0,6 ng/ml
r = 0,993

Mittelwert:
38,7 ng/ml (LKMB)
37,9 ng/ml (LKCP)

Methodenvergleich 2: Der Assay wurde für 106 Plasmaproben mit einem radioimmunometrischen Assay (Kit A) verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 1 – 56 ng/ml. Siehe Grafik Methodenvergleich 2.) Durch lineare Regression:

(IML) = 0,91 (Kit A) + 1,2 ng/ml
r = 0,96

Mittelwert:
5,6 ng/ml (IMMULITE)
6,3 ng/ml (Kit A)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

CK-MB

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000— para la medición cuantitativa de creatin quinasa isoenzima MB (CK-MB) en plasma heparinizado o suero, como ayuda en el seguimiento del paciente y la valoración del pronóstico del infarto de miocardio.

Referencia: **LKMB1** (100 tests),
LKMB5 (500 tests)

Código del Test: **CMB**

Código de Color: **Azul Oscuro**

Resumen y Explicación del Test

Creatin quinasa (CK) es una enzima encontrada principalmente en músculo y cerebro, estando presente en tres isoformas diméricas — CK-MM (CK-3), CK-MB (CK-2), y CK-BB (CK-1) — a partir de las subunidades M y B. La isoenzima CK-MB, tiene un peso molecular de aproximadamente 87 000 daltons, siendo el 5 al 50% de la CK total activa en miocardio. En músculo esquelético, por el contrario, normalmente es igual o inferior al 1%, CK-MM es la forma dominante. Aunque el porcentaje puede ser superior al 10% en condiciones que reflejan daños en músculo esquelético y procesos regenerativos (e.g. ejercicio severo, distrofia muscular, polimiositis).²

CK-MB es uno de los mas importantes marcadores cardiacos (a pesar de no ser totalmente cardioespecifico), jugando un papel importante en establecer y confirmar el infarto agudo de miocardio (IAM) y monitorizar la reperfusión durante la terapia trombolítica en IAM.²

En IAM, la CK-MB plasmática se incrementa entre las 3 a 8 horas después de los primeros síntomas del dolor de

pecho, mostrando un pico a las 9 a 30 horas, volviendo a los niveles basales dentro de las 48 a 72 horas.¹⁵

Determinaciones seriadas de CK-MB muestran mayor información que una simple determinación: Una determinación de CK-MB, aunque se realice dentro del periodo de tiempo adecuado, no puede confirmar con certeza el IAM. Niveles altos podrían reflejar daños en músculo esquelético en vez de daño cardiaco. Un valor dentro del rango de referencia podría ser significativo si representa un incremento de los valores basales del paciente. (bajos niveles basales pueden ser encontrados en personas mayores.) De acuerdo con esto, se recomienda que la CK-MB sea determinada a la admisión del paciente o sala de urgencias, y repetida a las 3-horas a intervalos de entre 6- y 9- horas en pacientes con cambios electrocardiográficos no específicos,^{5,2} o a intervalos de 6- a 8-horas sobre un periodo de 24-horas y con mas frecuencia si se establece la terapia trombolítica.²

La terapia trombolítica, si tiene éxito, provoca "lavado enzimático" que es observado por el agudo incremento de los niveles circulantes de CK-MB rápidamente a los 90 minutos después de iniciar la terapia.² De acuerdo con esto, determinaciones seriadas de los niveles de CK-MB han sido usadas en el contexto de evaluar la perfusión.

Principio del análisis

IMMULITE/IMMULITE 1000 CK-MB es un ensayo enzimoinmunométrico quimioluminiscente, basado en un anticuerpo monoclonal anti-CK-MB marcado con ligando y en la separación mediante una fase sólida recubierta de anti-ligando. El complejo CK-MB unido – y por ello la emisión de fotones detectados en el luminómetro – es proporcional a la concentración de CK-MB en la muestra.

Ciclos de incubación: 1 x 30 minutos.

Recogida de la muestra

Se recomienda ultracentrifugar para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

Las muestras ictericas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El CK-MB IMMULITE/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativas

Volumen requerido: 50 µl de plasma heparinizado o suero. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido.)

Conservación: 24 horas a 2–8°C, o 30 días a –20°C

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente

explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas de código de barras son necesarias para el ensayo.

Nota: Los anticuerpos frente a CK-MB utilizados en el procedimiento IMMULITE CK-MB se adquieren, con licencia, de la Universidad de Washington.

Unidades de análisis de CK-MB (LMB1)

Cada unidad etiquetada con código de barras contiene una bola recubierta de anti-ligando. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

LKMB1: 100 unidades.

LKMB5: 500 unidades.

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

Vial de Reactivo de CK-MB (LMB2)

Con código de barras. 7,5 mL ligando unido a anti-CK-MB monoclonal de ratón y fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada a un anticuerpo anti-CK-BB monoclonal de ratón en buffer, con conservante. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

LKMB1: 1 vial. **LKMB5:** 5 viales.

Ajustadores de CK-MB (LMBL, LMBH)

Dos viales (bajo y alto) CK-MB liofilizada en una matriz de suero no humano, con conservante. Al menos 30 minutos antes de utilizar: Reconstituir cada vial con **4,0 mL** de agua destilada o desionizada. Mezclar suavemente por agitación o inversión. Alicuotar y congelar después de reconstituir: estable por 2 meses

(alicuotado) a –20°C.

LKMB1: 1 juego. **LKMB5:** 2 juegos.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de muestra de CK-MB (LMBZ)

Para la dilución manual de las muestras de los pacientes. Un vial conteniendo 25 ml de matriz de suero no humano libre de CK-MB, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (alicuotados) a –20°C.

LSUBX: Sustrato quimioluminiscente

LPWS2: Lavado de sonda

LKPM: Kit de limpieza de sonda

LCHx-y: Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

LSCP: Recipientes de muestras (desechables)

LSCC: Tapones para los recipientes de muestras (opcionales)

CCCM: Control de Marcadores Cardiacos, que contiene CK-MB.

También necesarios

Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000 para: la preparación, instalación, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Inspeccionar visulamente cada unidad de reacción para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

Intervalo de ajuste recomendado:

2 semanas.

Muestras de Control de calidad: Use

controles o pools de muestras con dos niveles diferentes, como mínimo, de CK-MB (bajo y alto).

Valores esperados

Se realizó un estudio de valores de normalidad con sueros de 171 voluntarios del laboratorio aparentemente sanos. Esta

población dió una mediana de 0,9 ng/ml, con un percentil 97.5 superior de 3,5 ng/ml, y un percentil 99 superior de 5,3 ng/ml.

Se realizó un segundo estudio con sueros de las siguientes poblaciones:

68 pacientes hospitalizados por enfermedades no cardíacas

11 pacientes de urgencias sin AMI y con dolor de pecho

12 pacientes de urgencias sin evidencia de enfermedad cardiovascular o de traumatología.

Esta población de 91 muestras dió una mediana de 2,0 ng/ml, con un percentil 97,5 superior de 5,7 ng/ml y un percentil 99 superior de 7,3 ng/ml.

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitación

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/ml.

Intervalo de calibración:

Hasta 500 ng/ml

Sensibilidad: 0,6 ng/ml

Efecto de gancho a altas dosis:

Ninguno hasta 50 000 ng/ml.

Precisión intraensayo (dentro de una tanda):

Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Véase la tabla "Precisión intraensayo").

Precisión entre ensayos (de una tanda a otra):

Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 20 tomas distintas. (Véase la tabla de "Precisión entre ensayos").

Linealidad: las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linealidad" para resultados representativos).

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de CK-MB (1 660, 3 420 y 7 080 ng/ml). (Ver la tabla "Recuperación" para resultados representativos).

Especificidad: Los anticuerpos son altamente específicos para CK-MB, con baja reacción cruzada para otras isoenzimas de creatín quiinasa. (Véase la tabla "Especificidad").

Bilirrubina: Causa una bajada de los valores. (Véase la tabla "Bilirrubina").

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 μ L/mL no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Tipo alternativo de muestra: Para determinar si el suero se puede utilizar con el kit IMMULITE CK-MB, se extrajo sangre a 5 voluntarios del laboratorio en tubos vacutainer y heparinizados. Todas las muestras se cargaron con CK-MB y luego examinadas mediante el ensayo de CK-MB de IMMULITE, obteniendo los siguientes resultados.

(Suero) = 0,99 (Heparin) – 1,4 ng/ml
r = 1,00

Medias:

160 ng/ml (Heparin)

158 ng/ml (Suero)

Comparación de los métodos 1: El ensayo se ha comparado con el CK-MB (LKCP) IMMULITE de DPC en 190 muestras de plasma y suero de pacientes. (Intervalo de concentración:

aproximadamente hasta 500 ng/ml. Véase el gráfico "Comparación de Métodos 1"). Por regresión lineal:

(LKMB) = 1,04 (LKCP) – 0,6 ng/ml
r = 0,993

Medias:
38,7 ng/ml (LKMB)
37,9 ng/ml (LKCP)

Comparación con otros métodos 2: El procedimiento de IMMULITE CK-MB se comparó con un ensayo inmunoradiométrico (Kit A) sobre 106 muestras de plasma de los pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 1 a 56 ng/ml. Véase el gráfico "Comparación de Métodos 2"). Por regresión lineal:

(IMMULITE) = 0,91 (Kit A) + 1,2 ng/ml
r = 0,96

Medias:
5,6 ng/ml (IMMULITE)
6,3 ng/ml (Kit A)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE® CK-MB

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la CK-MB dans le plasma hépariné et le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE et de IMMULITE 1000 et constitue une aide pour le suivi des patients et l'évaluation du pronostic de l'infarctus du myocarde.

Référence catalogue : **LKMB1** (100 tests), **LKMB5** (500 tests)

Code produit : **CMB**.
Code couleur : **bleu foncé**.

Introduction

La créatine kinase (CK) est une enzyme, se trouvant principalement dans les tissus musculaires et le cerveau, qui existe sous la forme de trois isoenzymes dimériques – CK-MM (CK-3), CK-MB (CK-2) et CK-BB

(CK-1) – composées de sous-unités nommées B et M. L'isoenzyme CK-MB, de poids moléculaire d'environ 87 000 daltons, représente 5 à 50% de l'activité CK totale dans le myocarde. Alors que dans le muscle squelettique, elle représente 1% ou moins, la CK-MM étant la forme dominante. Cependant ce pourcentage peut s'élever jusqu'à 10% en cas de lésion du muscle squelettique et de régénération (par exemple : exercices violents, dystrophie musculaire, polymyosites).²

La CK-MB est l'un des plus importants marqueurs cardiaques (bien que n'étant pas totalement spécifique du cœur) avec des rôles bien définis pour la confirmation de l'infarctus aigu du myocarde ou le suivi de la reperfusion après traitement thrombolytique à la suite d'un infarctus aigu du myocarde.²

En cas d'infarctus aigu du myocarde, la CK-MB plasmatique augmente typiquement 3 à 8 heures après le début des douleurs thoraciques, atteint un pic dans les 9 à 30 heures et revient à son taux de base dans les 48 à 72 heures. Une série de dosages de CK-MB donne plus d'informations qu'un dosage isolé : un dosage de CK-MB, même réalisé au bon moment, ne peut pas définitivement confirmer ou infirmer la présence d'infarctus aigu du myocarde. Un taux élevé peut traduire une lésion du muscle squelettique plutôt qu'une lésion du myocarde. Une valeur comprise dans le domaine normal peut être significative si elle représente une élévation d'un taux de base chez un patient. (Des taux de base faibles peuvent être quelques fois rencontrés chez les personnes âgées). Aussi, il est recommandé de doser le CK-MB lors de l'admission aux urgences et ensuite à intervalles réguliers : par exemple toutes les trois heures sur une période de 6 à 9 heures chez les patients avec des modifications non spécifiques de l'électrocardiogramme^{5,2} ou toutes les 6 à 8 heures sur une période de 24 heures, ou plus fréquemment si une thérapie thrombolytique est entreprise.²

La thérapie thrombolytique, en cas de succès, conduit à un relargage d'enzymes mis en évidence par l'augmentation marquée des taux de CK-MB circulant dès la 90^{ème} minute suivant le début de la thérapie.² Aussi les séries de dosages de

CK-MB ont été utilisées pour évaluer la reperfusion.

Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 CK-MB est un immunodosage chimiluminescent basé sur un anticorps monoclonal anti-CK-MB marqué par un ligand et une séparation par une phase solide revêtue d'un anti-ligand. Le complexe CK-MB fixé - et donc l'émission de photons mesurée par le luminomètre - est proportionnel à la concentration en CK-MB de l'échantillon.

Cycles d'incubation : 1 x 30 minutes

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons lipémiqes par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

Des échantillons ictériques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret CK-MB IMMULITE/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire : 50 µl de sérum ou de plasma hépariné. (L'unité-échantillon

doit contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.)

Conservation : 24 heures à +2°C/+8°C ou 30 jours à -20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2/+8 °C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter toute contamination et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Noter que les anticorps anti-CK-MB utilisés dans le coffret IMMULITE CK-MB sont brevetés par l'Université de Washington.

Tests unitaires CK-MB (LMB1)

Chaque unité à code-barre contient une bille revêtue d'anti-ligand. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

LKMB1 : 100 unités.

LKMB5 : 500 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de

fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité

Cartouche à réactif CK-MB (LMB2)

Avec code-barre. 7,5 ml d'anticorps monoclonal murin anti-CK-MB marqué par un ligand et un anticorps monoclonal murin anti-CK-BB marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Conserver bouchés et réfrigérés : stables à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

LKMB1: 1 cartouche.

LKMB5: 5 cartouches.

Ajusteurs CK-MB (LMBL, LMBH)

2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») de CK-MB lyophilisée dans une matrice de sérum non humain, avec conservateur. 30 minutes avant utilisation, reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger doucement. Aliquoter et congeler après reconstitution : stables 2 mois (aliquoté) à -20°C.

LKMB1: 1 jeu. **LKMB5**: 2 jeux.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon CK-MB (LMBZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons de patients. Un flacon de 25 ml contenant une matrice de sérum non-humain sans CK-MB, avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

LSUBX : Substrat chimiluminescent

LPWS2 : Solution de lavage

LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LCHx-y : Supports pour unités échantillons (avec code-barre)

LSCP : unités échantillons (à usage unique)

LSCC : Bouchons pour unités échantillons (optionnel)

CCCM : Contrôle Marqueurs Cardiaques, contenant de la CK-MB.

Egalement requis

Pipettes pour le transfert des échantillons ; eau distillée ou désionisée ; contrôles.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour : la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de CK-MB.

Valeurs Attendues

Une étude sur les valeurs de référence a été conduite sur des échantillons sériques provenant de 171 volontaires, apparemment en bonne santé. Cette population présentait une valeur médiane à 0,9 ng/ml, une limite supérieure au 97,5^{ème} percentile de 3,5 ng/ml et une limite supérieure au 99^{ème} percentile de 5,3 ng/ml.

Une seconde étude a été réalisée sur des échantillons sériques prélevés sur les types de population suivants:

68 patients, hospitalisés pour des raisons non cardiaques,

11 patients admis aux urgences pour une douleur thoracique mais sans infarctus aigu du myocarde,

12 patients admis aux urgences sans traumatisme et sans maladie cardiovasculaire évidente.

Cette population de 91 échantillons présentait une valeur médiane à 2,0 ng/ml, une limite supérieure au 97,5^{ème} percentile de 5,7 ng/ml et une limite supérieure au 99^{ème} percentile de 7,3 ng/ml.

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums exceptionnels et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en ng/ml.

Intervalle de linéarité :

jusqu'à 500 ng/ml.

Sensibilité analytique :

0,6 ng/ml.

Effet-crochet aux doses élevées :

aucune jusqu'à 50 000 ng/ml.

Précision intra-essai : les valeurs ont été établies pour chacun des échantillons à partir de 20 doublets dosés au cours d'une même série. (Voir le tableau "Intraassay Precision").

Précision inter-essais : les valeurs ont été établies pour chacun des échantillons dosés dans 20 séries différentes. (Voir le tableau "Interassay Precision").

Linéarité : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau "Linearity" pour des données représentatives.)

Récupération : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de CK-MB (1 660, 3 420 et 7 080 ng/ml). (Voir le tableau "Recovery" pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps est hautement spécifique de la CK-MB, avec en particulier de faibles réactions croisées avec les isoenzymes de la créatine kinase. (Voir le tableau " Specificity ".)

Bilirubine occasionnent une diminution des valeurs mesurées. (Voir le tableau " Bilirubin ".)

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Utilisation de différents types

d'échantillons : pour déterminer si le sérum peut être utilisé avec la méthode IMMULITE CK-MB, du sang a été prélevé auprès de 5 volontaires et a été dans des tubes vacutainer secs et héparinés. Tous les échantillons ont été chargés de CK-MB, puis dosés selon le protocole IMMULITE CK-MB, avec les résultats suivants.

(Sérum) = 0,99 (Héparine) – 1,4 ng/ml
r = 1,00

Moyennes :
160 ng/ml (Héparine)
158 ng/ml (Sérum)

Comparaison de méthodes 1 : le test a été comparé au test IMMULITE CK-MB (LKCP) de DPC sur 190 échantillons de sérum et plasma (dont les concentrations allaient jusqu'à 500 ng/ml environ. Voir graphique Comparaison de Méthodes 1.) Par régression linéaire :

(LKMB) = 1,04 (LKCP) – 0,6 ng/ml
r = 0,993

Moyennes :
38,7 ng/ml (LKMB)
37,9 ng/ml (LKCP)

Comparaison de méthode 2 : le test a été comparé à un dosage immunoradiométrique (Trousse A), sur 106 échantillons de plasma (dont les concentrations allaient d'environ 1 à 56 ng/ml. Voir graphique Comparaison de Méthodes 2.) Par régression linéaire :

(IML) = 0,91 (Trousse A) + 1,2 ng/ml
r = 0,96

Moyennes :
5,6 ng/ml (IMMULITE)
6,3 ng/ml (Trousse A)

Assistance technique

En France distribué par DPC France 90
bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre
d'un Système Qualité enregistré sous ISO
13485:2003.

Italiano

CK-MB

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa dell'isoenzima MB creatin chinasi (CK-MB) nel plasma eparinizzato o nel siero quale ausilio nella gestione dei pazienti e nella valutazione della prognosi nell'infarto del miocardio.

Codice: **LKMB1** (100 test), **LKMB5** (500 test)

Codice del Test: **CMB** Colore: **Blu Scuro**

Riassunto e spiegazione del Test

La creatin chinasi (CK) è un enzima che si trova principalmente nel tessuto muscolare e cerebrale, ed esiste sotto forma di tre isoenzimi dimerici — CK-MM (CK-3), CK-MB (CK-2), e CK-BB (CK-1) — a partire da sottunità denominate M e B. L'isoenzima CK-MB, con una massa molecolare di circa 87 000 dalton, è responsabile dal 5% al 50% dell'attività CK totale nel miocardio. Nella muscolatura scheletrica, d'altro canto, costituisce invece soltanto l'1% o meno dell'attività, perchè la CK-MM è la forma dominante, benchè la percentuale possa arrivare fino al 10% in condizioni collegate ad uno strappo muscolare ed alla rigenerazione (p.e. esercizio fisico pesante, distrofia muscolare, polimiosite).²

La CK-MB è uno dei marcatori miocardici più importanti (benchè non sia completamente specifica), con ruoli ben precisi nella conferma dell'infarto acuto del miocardio (AMI) e nel monitoraggio della riperfusione durante la terapia trombolitica in seguito all'AMI.²

Nell'AMI, i livelli plasmatici di CK-MB aumentano tipicamente da 3 a 8 ore dopo l'inizio dei dolori al petto, raggiungendo il

massimo entro 9 – 30 ore e ritornano a valori di base entro 48 – 72 ore.¹⁵ Determinazioni seriali della CK-MB forniscono più informazioni rispetto ad una singola determinazione: una misurazione della CK-MB, anche quando viene effettuata all'ora idonea, non può confermare o eliminare con certezza la possibilità che si sia verificato un AMI. Livelli elevati possono essere una conseguenza di un danno scheletrico piuttosto che di un danno miocardico. Un valore entro il range di riferimento potrebbe essere significativo se rappresenta un aumento dal livello di base del paziente. (livelli di base bassi vengono riscontrati, a volte, negli anziani). Per questo motivo, si consiglia di misurare la CK-MB all'arrivo in ospedale e successivamente ad intervalli regolari; per esempio, ad intervalli di 3 ore durante un periodo di 6-9 ore per pazienti con cambiamenti non specifici sull'elettrocardiogramma,^{5,2} od ad intervalli di 6 – 8 ore durante un periodo di 24 ore e più frequentemente se è stata avviata la terapia trombolitica.²

La terapia trombolitica, se di successo, porta ad "un'eliminazione dell'enzima" che si rileva con un forte aumento nei livelli circolanti di CK-MB nel giro di 90 minuti dopo l'inizio della terapia.² Per questo motivo, i livelli seriali della CK-MB sono stati utilizzati in questo contesto per stabilire la riperfusione.

Principio del procedimento

L'IMMULITE/IMMULITE 1000 CK-MB è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza marcato con enzima, basato su un anticorpo monoclonale anti-CK-MB marcato con ligando e sulla separazione attraverso un anti-ligando coattato alla fase solida. Il complesso CK-MB legato - e quindi anche l'emissione di fotoni, cosiccome misurati dal luminometro - sono proporzionali alla concentrazione di CK-MB contenuto nel campione

Cicli d'incubazione: 1 x 30 minuti.

Raccolta del Campione

E' raccomandata un'ultracentrifuga per eliminare i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo

motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

I campioni itterici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati.

La centrifugazione dei campioni del siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE/IMMULITE 1000 CK-MB non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 50 µL di plasma eparinizzato o siero. (Il porta campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto).

Conservazione: 24 ore a 2–8°C, o 30 giorni a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati da sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Sottostrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento).

Acqua: Utilizzare acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti costituiscono un set misto. Le etichette provviste di codice a barre sono necessarie per l'esecuzione del dosaggio.

Gli anticorpi anti-CK-MB utilizzati nel dosaggio CK-MB IMMULITE sono brevettati dalla Washington University.

Test Unit CK-MB (LMB1)

Ogni unit con codice a barra contiene una biglie coattata con anti-ligando. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

LKMB1: 100 unit. **LKMB5:** 500 unit.

Le buste delle test unit devono essere a temperatura ambientale prima di aprire. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatto la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere contro umidità.

Porta Reagente CK-MB (LMB2)

Con codice a barre. 7,5 mL di anticorpo monoclonale murino anti-CK-MB marcato con ligando e fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata all'anticorpo monoclonale murino anti-CK-BB in un tampone, con conservanti. Conservare chiuso nel frigorifero: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato nella maniera indicata.

LKMB1: 1 porta reagente.

LKMB5: 5 porta reagenti.

Calibratori CK-MB (LMBL, LMBH)

Due flaconi (uno Basso ed uno Alto) di CK-MB liofilo in una matrice di siero non umano, con conservanti. Almeno 30 minuti prima dell'uso, ricostituire ogni flacone aggiungendo **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando o invertendo *delicatamente*. Aliquotare e congelare dopo la ricostituzione: stabile per 2 mesi (aliquotato) a –20°C.

LKMB1: 1 set. **LKMB5:** 2 set.

Componenti del kit forniti separatamente

Diluyente del CK-MB (LMBZ)

Per la diluzione manuale dei campioni dei pazienti. Un flacone contenente 25 mL di matrice di siero non umano priva di CK-MB, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

LSUBX: Substrato Chemiluminescente

LPWS2: Tampone di lavaggio dell'Ago

LKPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LCHx-y: Tubi porta campioni (con codice a barre)

LSCP: Porta Campioni (monouso)

LSCC: Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

CCCM: Controllo del marcatore cardiaco contenente la CK-MB

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedere il manuale dell'operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: la preparazione, la messa a punto, la regolazione, la prova ed i procedimenti per il controllo della qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di CK-MB.

I valori attesi

E' stato effettuato uno studio sul range di riferimento utilizzando campioni di siero provenienti da 171 campioni di volontari in apparente buono stato di salute. Questa popolazione ha prodotto un valore mediano di 0,9 ng/mL, un valore al 95°percentile superiore di 3,5 ng/mL ed un

valore al 99° percentile superiore di 5,3 ng/mL.

E' stato condotto un secondo studio su campioni di siero provenienti dalle seguenti categorie di popolazione:

68 pazienti, ospedalizzati per patologie non cardiache,

11 pazienti che accusavano dolori al petto non provenienti dal pronto soccorso per infartuati,

12 pazienti che non presentavano sintomi evidenti di patologie cardiovascolari e non afferenti al pronto soccorso.

Questa popolazione di 91 campioni ha prodotto un valore mediano di 2,0 ng/mL con un valore al 97,5° percentile superiore di 5,7 ng/mL ed un valore al 99° percentile superiore di 7,3 ng/mL.

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire le proprie gamme di riferimento.

Limiti

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in ng/mL.

Gamma di calibrazione: Fino a 500 ng/mL

Sensibilità analitica: 0,6 ng/mL

Effetto di dosi forti: Nessun effetto fino a 50 000 ng/mL.

Precisione intra-dosaggio (All'interno della stessa seduta): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 replicati in un'unica seduta (Vedi la Tabella "Intraassay Precision").

Precisione inter-dosaggio (Da una seduta all'altra): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 sedute diverse. (Vedi la Tabella "Interassay Precision").

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di CK-MB (1 660, 3 420 e 7 080 ng/mL). (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per la CK-MB, con crossreattività particolarmente bassa verso altri isoenzimi della creatin chinasi. (Vedi la Tabella "Specificity".)

Bilirubina: Causa una depressione dei valori. (Vedi la Tabella "Bilirubina".)

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 µL/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di campione alternativo: Per determinare se può essere utilizzato il siero nel dosaggio CK-MB IMMULITE, il sangue è stato prelevato da 5 volontari in provette eparinizzate e semplici. CK-MB è stata aggiunta a tutti i campioni; poi i campioni sono stati analizzati mediante il procedimento di CK-MB dell'IMMULITE, con i risultati seguenti.

(Siero) = 0,99 (Eparina) – 1,4 ng/mL
r = 1,00

Valore medio:
160 ng/mL (Eparina)
158 ng/mL (Siero)

Confronto di metodi 1: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio IMMULITE CK-MB (LKCP) della DPC in 190 campioni del siero e plasma dei pazienti. (Gamma di concentrazione: fino a circa 500 ng/mL circa. Vedere la grafica "Comparazione

dei Metodi 1".) Mediante regressione lineare:

(LKMB) = 1,04 (LKCP) – 0,6 ng/mL
r = 0,993

Valore medio:
38,7 ng/mL (KLMB)
37,9 ng/mL (LKCP)

Confronto di metodi 2: il dosaggio è stato comparato al dosaggio immunoradiometrico (Kit A) in 106 campioni di plasma. (Gamma di concentrazione: da 1 fino a 56 ng/mL. Vedere la grafica "Comparazione dei Metodi 2".) Mediante regressione lineare:

(IML) = 0,91 (Kit A) + 1,2 ng/mL
r = 0,96

Valore medio:
5,6 ng/mL (IMMULITE)
6,3 ng/mL (Kit A)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

Creatina quinase – MB

Utilização: Para o doseamento diagnósticos *in vitro* da creatina quinase MB (CK-MB) em plasma heparinizado ou soro no auxílio do controle do doente e na avaliação de prognóstico de enfarte do miocárdio, em conjunto nos analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000.

Números de catálogo: **LKMB1** (100 testes), **LKMB5** (500 testes)

Código do teste: **CMB**
Cor: **Azul escuro**

Sumário e explicação do teste

A quinase (CK) é um enzima encontrado principalmente no tecido muscular e cerebral, que existe como três isoenzimas diméricos — CK-MM (CK-3), CK-MB (CK-2), e CK-BB (CK-1) — elaboradas a partir de subunidades designadas como M e B. O isoenzima CK-MB, que possui uma massa molecular de aproximadamente 87 000 daltons, é responsável por 5 a 50% da actividade total de CK no

miocárdio. Em contraste, no músculo esquelético é normalmente responsável por apenas 1% ou menos, sendo o CK-MM a forma dominante, embora a percentagem possa chegar a 10% em condições que reflitam dano muscular esquelético e regeneração (por exemplo, exercícios severos, distrofia muscular, polimiosite).²

A CK-MB é um dos mais importantes marcadores miocárdicos (apesar de não ser totalmente específica do coração), com actuação bem estabelecida na confirmação de enfarte agudo do miocárdio e na monitorização da reperfusão durante terapia trombolítica após enfarte agudo do miocárdio.²

No enfarte agudo do miocárdio, a CK-MB no plasma aumenta tipicamente de 3 a 8 horas após o começo das dores no peito, e atinge o máximo em 9 a 30 horas, voltando a valores de base de referência dentro de 48 a 72 horas.¹⁵ O padrão de determinações de CK-MB em série é mais informativo que uma simples determinação: uma medição de CK-MB, mesmo quando realizada no período adequado, não pode confirmar ou excluir definitivamente a ocorrência de enfarte agudo do miocárdio. Níveis elevados podem reflectir dano esquelético em vez de dano do miocárdio. Um valor dentro da base de referência pode ser significativo se representar um aumento a partir do nível de valor de base de referência do doente. (Baixos níveis de base de referência são às vezes encontrados nos idosos.) De acordo com estes resultados, tem sido recomendado que a CK-MB seja medida no momento de admissão às emergências, e em intervalos daí em diante: por exemplo, em cada 3 horas num período de 6 a 9 horas em doentes sem mudanças específicas no eletrocardiograma;^{5,2} ou em cada 6 a 8 horas num período de 24 horas e com mais frequência caso terapia trombolítica tenha sido instituída.²

A terapia trombolítica, caso bem sucedida, leva a uma "lavagem de enzimas" evidenciada por um aumento pronunciado nos níveis de CK-MB circulante no mínimo de 90 minutos após o início da terapia.² Consequentemente, os níveis de CK-MB em sequência foram utilizados neste contexto para avaliar reperfusão.

Princípio do procedimento

O kit the CK-MB IMMULITE/IMMULITE 1000 é um ensaio imunométrico, quimioluminescente marcado com enzima, baseado num anticorpo monoclonal anti-CK-MB marcado a um ligante e com uma separação por fase sólida de revestimento anti ligante. O complexo ligado a CK-MB origina a libertação de fótons quantificado pelo luminómetro e proporcional à concentração de CK-MB na amostra.

Ciclos de incubação: 1 x 30 minutos.

Colheita

Uma ultracentrifugação é recomendada para clarificar amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

Amostras ictericas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE / IMMULITE 1000 CK-MB não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de amostra: 50 µL de soro ou plasma heparinizado. (Cuvete de amostra deve conter um mínimo de 100 µL a mais que o volume total exigido.)

Estabilidade: 24 horas a 2–8°C, ou 30 dias a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Use água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessários para o ensaio.

Os anticorpos para CK-MB utilizados no procedimento CK-MB de IMMULITE foram licenciados pela Universidade de Washington.

Unidades de Teste de Creatina quinase - MB (LMB1)

Cada unidade rotulada com código de barras contém uma pérola revestida com antiligante. Estável até a data de validade a 2–8°C.

LKMB1: 100 unidades.

LKMB5: 500 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela borda superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade

Embalagem de reagente de Creatina quinase - MB (LMB2)

Com código de barras. Contém 7,5 mL de anticorpo monoclonal de rato anti-CK-MB rotulado como ligante e fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo monoclonal de rato anti-CK-BB tamponizado, com conservante. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C. Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado de acordo com as indicações.

LKMB1: 1 embalagem.

LKMB5: 5 embalagens.

Ajustes de Creatina quinase - MB (LMBL, LMBH)

Contém dois frascos (nível alto e baixo) de CK-MB liofilizada numa matriz de soro não humano, com conservante. Pelo menos 30 minutos antes do uso, reconstitua cada frasco, adicionando **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por movimento ou inversão suave. Separe por alíquotas e congele após reconstituição: estável por 2 meses (em alíquotas) a –20°C.

LKMB1: 1 conjunto. **LKMB5:** 2 conjuntos.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluyente de amostra para Creatina quinase - MB (LMBZ)

Para a diluição manual de amostras de doentes. Um frasco que contenha 25 mL de matriz de soro de origem não humana, sem CK-MB e com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

LSUBX: Substrato quimioluminescente

LPWS2: Solução de lavagem

LKPM: Kit de limpeza do pipetador

LCHx-y: Suportes de cuvetes de amostra (com código de barras)

LSCP: Cuvetes de amostra (descartáveis)

LSCC: Tampa de cuvetes de amostra (opcional).

CCCM: Módulo de Controlo de Marcadores Cardíacos contendo CK-MB.

Também necessário:

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada; controlos.

Procedimento de doseamento

Têm em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Consulte o Manual do Operador de IMMULITE ou IMMULITE 1000 para para instruções sobre preparação, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:
utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de Creatina quinase - MB.

Valores de Referência

Para elaborar a gama dos valores de referência, foi efectuado um estudo com 171 amostras de soro de pessoas aparentemente saudáveis. Nesta população obteve-se um valor médio de 0,9 ng/mL, com o valor médio de 3,5 ng/mL num percentil superior de 97,5 e o valor médio de 5,3 ng/mL num percentil superior de 99.

Foi efectuado um segundo estudo com soros das seguintes populações:

68 doentes, hospitalizados por razões não cardíacas

11 doentes com dor no peito fora do departamento de emergência IMA

12 doentes do departamento de emergência não traumático, sem evidência de doença cardiovascular.

Nesta população de 91 amostras obteve-se um valor médio de 2,0 ng/mL, com o valor superior de 5,7 ng/mL num percentil de 97,5 e de 7,3 ng/mL num percentil superior de 99.

Considere estes limites apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL.

Calibração: Até 500 ng/mL

Sensibilidade Analítica: 0,6 ng/mL

Efeito Hook de Alta Dose:
Nenhum até 50 000 ng/mL.

Precisão Intra-ensaio (Entre ensaios):
Estatísticas foram calculadas para amostras dos resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Ver a tabela de "Precisão inter ensaios")

Precisão Inter-ensaio (Ensaio a ensaio): Estatísticas foram calculadas para amostras doseadas em 20 ensaios diferentes. (Ver a tabela de "Precisão entre ensaio").

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções com CK-MB (1 660, 3 420 e 7 080 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: O anticorpo é específico para CK-MB, com reactividade cruzada particularmente baixa com outras isoenzimas de quinase. (Ver tabela de "Especificidade".)

Bilirrubina: Possuem um efeito, causando uma depressão dos valores. (Ver tabela de "Bilirrubina".)

Hemolise: A Presença de eritrocitos em concentrações até 30 $\mu\text{L/mL}$ não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de Amostra Alternativa: Para determinar se o soro pode ser usado no procedimento CK-MB de IMMULITE, o sangue de 5 voluntários de laboratório foi colhido em tubos de contenção a vácuo simples e heparinizados. Todas as amostras foram adicionadas com CK-MB e depois doseadas pelo procedimento CK-MB de IMMULITE, com os seguintes resultados.

(Soro) = 0,99 (Heparina) – 1,4 ng/mL
 $r = 1,00$

Médias:
160 ng/mL (Heparina)
158 ng/mL (Soro)

Comparação de Métodos 1: O doseamento foi comparado ao CK-MB IMMULITE (LKCP) da DPC em 190 amostras de plasma e soro de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente até 500 ng/mL. Consulte o gráfico "Comparação do Método 1".) Por regressão linear:

(LKMB) = 1,04 (LKCP) – 0,6 ng/mL
 $r = 0,993$

Médias:
38,7 ng/mL (LKMB)
37,9 ng/mL (LKCP)

Comparação de Métodos 2: O doseamento foi comparado ao ensaio imunoradiométrico (Kit A) em 106 amostras de plasma. (Zona de trabalho: aproximadamente 1 a 56 ng/mL. Ver gráfico "Comparação do Método 2".) Regressão linear:

(IML) = 0,91 (Kit A) + 1,2 ng/mL
 $r = 0,96$

Médias:
5,6 ng/mL (IMMULITE)
6,3 ng/mL (Kit A)

Assistência Técnica:

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2006-11-15

PILKMB – 11



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00