

 IMMULITE[®] 2000

CK-MB

DPC[®]

IMMULITE® 2000 CK-MB

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — 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: **L2KMB2** (200 tests),
L2KMB6 (600 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;^{2,5} 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 2000 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

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 2000 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 µL heparinized plasma or serum.

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. Labels on the inside box are needed for the assay.

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

CK-MB Bead Pack (L2MB12)

With barcode. 200 beads, coated with anti-ligand. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KMB2: 1 pack. **L2KMB6:** 3 packs.

CK-MB Reagent Wedge (L2MBA2)

With barcode. 11.5 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. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KMB2: 1 wedge. **L2KMB6:** 3 wedges.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

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.

L2KMB2: 1 set. **L2KMB6:** 2 sets.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

For the on-board dilution of patient samples. One vial of concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.

L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

CCCM: Cardiac Marker Control Module containing CK-MB.

Also Required
Distilled or deionized water; test tubes;
controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

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 2.6 ng/mL, and an upper 99 percentile of 4.8 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 2.3 ng/mL, with an upper 97.5th percentile of 5.7 ng/mL and an upper 99 percentile of 7.2 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 1988;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. (Unless otherwise noted, all were generated on samples collected in heparinized tubes.)

Conversion Factor: ng/mL \times 1 \rightarrow μ g/L

Calibration Range: Up to 500 ng/mL.

Analytical Sensitivity: 0.6 ng/mL.

High-dose Hook Effect: None up to 200,000 ng/mL.

Precision: Samples were repeatedly assayed in duplicate over the course of several days, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "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 (500, 2,000 and 7,000 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 naturally occurring forms of creatine kinase isoenzymes. (See "Specificity" table.)

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

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 512 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: To determine whether serum can be used in the IMMULITE 2000 CK-MB procedure, blood was collected from 36 laboratory volunteers into heparinized and plain vacutainer tubes. All samples were spiked with CK-MB and assayed by the IMMULITE 2000 CK-MB procedure, with the following results.

(Serum) = 0.96 (Heparin) + 2.9 ng/mL
r = 0.993

Means:

122 ng/mL (Heparin)
120 ng/mL (Serum)

A separate study on 44 endogenous samples from healthy volunteers was also conducted.

(Serum) = 1.02 (Heparin) + 0.03 ng/mL
r = 0.995

Means:

1.44 ng/mL (Heparin)
1.49 ng/mL (Serum)

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

(IML 2000) = 1.04 (LKMB) – 0.82 ng/mL
r = 0.998

Means:

39.5 ng/mL (IMMULITE 2000)
38.7 ng/mL (IMMULITE – LKMB)

Method Comparison 2: One hundred twenty-five of these samples, with values less than 10 ng/mL, were analyzed by linear regression separately.

(See graph 2.)

(IML 2000) = 0.88 (LKMB) + 0.009 ng/mL
r = 0.961

Means:

3.12 ng/mL (IMMULITE 2000)
3.53 ng/mL (IMMULITE – LKMB)

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 RJ. 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.

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

Precision (ng/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	13.9	0.81	5.8%	0.90	6.5%
2	54.3	2.97	5.5%	3.68	6.8%
3	95.4	5.83	6.1%	7.10	7.4%
4	216	10.5	4.9%	12.0	5.6%
5	331	24.2	7.3%	30.5	9.2%

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	20	—	—
	4 in 8	9.5	10	95%
	2 in 8	5.1	5.0	102%
	1 in 8	2.6	2.5	104%
2	8 in 8	30	—	—
	4 in 8	15	15	100%
	2 in 8	7.7	7.5	103%
	1 in 8	3.9	3.8	103%
3	8 in 8	145	—	—
	4 in 8	67	73	92%
	2 in 8	33	36	92%
	1 in 8	16	18	89%
4	8 in 8	149	—	—
	4 in 8	70	75	93%
	2 in 8	35	37	95%
	1 in 8	18	19	95%

Recovery (ng/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	5.9	—	—
	A	29	31	94%
	B	105	106	99%
	C	341	356	96%
2	—	18	—	—
	A	41	42	98%
	B	118	117	101%
	C	339	367	92%
3	—	54	—	—
	A	75	76	99%
	B	155	151	103%
	C	391	401	98%
4	—	71	—	—
	A	92	92	100%
	B	172	167	103%
	C	420	417	101%
5	—	126	—	—
	A	150	145	103%
	B	236	220	107%
	C	488	470	104%

Specificity

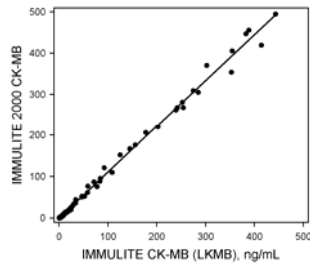
Compound ¹	Amount Added ² (ng/mL)	% Cross reactivity ³
CK-MM	5000	ND
CK-MM	100,000	0.27%
CK-BB	2500	ND
CK-BB	5000	ND

ND: Not detectable.⁴

Effect of Bilirubin (ng/mL)

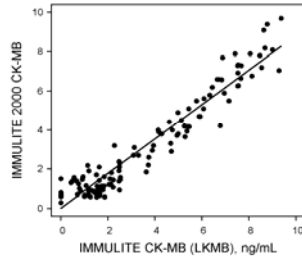
	Unspiked ³	Conjugated ¹		Unconjugated ²	
		100 mg/L	200 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
1	13	9.5	11	11	9.3
2	42	31	41	35	33
3	77	58	74	68	65
4	192	125	79	144	132
5	291	252	254	240	225

Method Comparison 1



(IML 2000) = 1.04 (LKMB) – 0.82 ng/mL
r = 0.998

Method Comparison 2



(IML 2000) = 0.88 (LKMB) + 0.009 ng/mL
r = 0.961

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). Linearity: ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. Recovery: ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. Specificity: ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³% Kreuzreaktivität, ⁴NN: Nicht nachweisbar. Effect of Bilirubin: ¹Konjugiert, ²Unkonjugiert, ³ohne Zugabe von. Method Comparison: CK-MB: CK-MB.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. 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, ³% Reacción cruzada, ⁴ND: no detectable. Effect of Bilirubin: ¹Conjugado, ²Libre, ³No sobrecargadas. Method Comparison: CK-MB: CK-MB.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. Linearity: ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. Recovery: ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. Specificity: ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croisée %. ⁴ND: non détectable. Effect of Bilirubin: ¹conjugué, ²non conjugué, ³Pur. Method Comparison: CK-MB: CK-MB.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (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, ³Percentuale di Crossreattività, ⁴ND: non determinabile. Effect of Bilirubin: ¹conjugato, ²non conjugato, ³Unspiked. Method Comparison: CK-MB: CK-MB.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente 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, ³Percentagem de reação cruzada, ⁴ND: não detectável. Effect of Bilirubin: ¹conjugado, ²nao-conjugado, ³Não adicionada. Method Comparison: CK-MB: Creatina quinase - MB.

Deutsch

CK-MB – IMMULITE

Verwendungszweck: Für in-vitro-diagnostische Tests mit dem Analysegerät IMMULITE 2000 – zur quantitativen Messung 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: **L2KMB2** (200 Tests), **L2KMB6** (600 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) dieser Anteil bis zu ca. 10% ansteigen.²

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,^{2,5} 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.² Das Monitoring der CK-MB Spiegel kann deshalb zur Therapiekontrolle verwendet werden.

Methodik

Der IMMULITE 2000 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 x 30 Minuten

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 zurückhaltend zu interpretieren.

Ikterische oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln 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 2000 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.

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 Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

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

CK-MB Kugel-Container (L2MB12)

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit Anti-Ligand. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KMB2: 1 Container.

L2KMB6: 3 Container.

CK-MB - Reagenzbehälter (L2MBA2)

Mit Barcode. 11,5 ml ligand-markierte CK-MB-Antikörper (monoklonal, Maus) und mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugierte monoklonale anti-CK-BB Mausantikörper in Pufferlösung. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KMB2: 1 Behälter.

L2KMB6: 3 Behälter.

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

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.

L2KMB2: 1 Set. **L2KMB6:** 2 Sets.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen mit konzentrierter (gebrauchsfertig) nichthumaner Protein-/Puffermatrix, mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20 °C haltbar.

L2M2Z: 25 ml. **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16x100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

L2M2Z: 3 Etiketten. **L2M2Z4:** 5 Etiketten.

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

L2ZT: 250 Teströhrchen (16 x 100 mm) für die Probenverdünnung

L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

CCCM: Kardiomarker-Kontrollmodul mit CK-MB.

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Teströhrchen; Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-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 2000-Handbuch.

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 2,6 ng/ml und eine obere 99 Perzentile von 4,8 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 2,3 ng/ml mit einer oberen 97,5 Perzentile von 5,7 ng/ml und einer oberen 99 Perzentile von 7,2 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. 1998;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten 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 in ng/ml angegeben. (Alle Proben wurden - sofern nicht anders angegeben - in Heparin-Röhrchen gesammelt.)

Umrechnungsfaktor: ng/ml \times 1 \rightarrow µg/l

Messbereich: Bis 500 ng/ml.

Analytische Sensitivität: 0,6 ng/ml.

High-Dose-Hook-Effect:
Bis 200 000 ng/ml keiner.

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen; siehe Tabelle „Precision“).

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

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei CK-MB-Lösungen (500, 2 000 und 7 000 ng/ml) 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-CK-MB-Antikörper mit vernachlässigbar niedriger Kreuzreaktivität zu anderen Isoformen der Kreatin-Kinase (siehe Tabelle „Specificity“).

Bilirubin: Drücken die Werte (siehe Tabelle „Bilirubin“).

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 512 mg/dl keinen

Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternative Probenarten: Um zu untersuchen, ob Serum im IMMULITE 2000 CK-MB Assay eingesetzt werden kann, wurde von 36 freiwilligen Labormitarbeitern Blut in Heparin-Röhrchen und in Röhrchen ohne Zusätze gesammelt. Alle Proben wurden mit CK-MB versetzt und dann mit dem IMMULITE 2000 CK-MB-Assay gemessen, wobei folgende Ergebnisse erzielt wurden:

(Serum) = 0,96 (Heparin) + 2,9 ng/ml
 $r = 0,993$

Mittelwerte:
122 ng/ml (Heparin)
120 ng/ml (Serum)

Eine weitere Studie mit 44 Proben von gesunden Freiwilligen wurde ebenfalls durchgeführt.

(Serum) = 1,02 (Heparin) + 0,03 ng/ml
 $r = 0,995$

Mittelwerte:
1,44 ng/ml (Heparin)
1,49 ng/ml (Serum)

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde unter Verwendung von 190 Patientenproben mit dem IMMULITE CK-MB (LKMB) von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich ca. bis 500 ng/ml. Siehe Grafik 1.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,04 (LKMB) – 0,82 ng/ml
 $r = 0,998$

Mittelwerte:
39,5 ng/ml (IMMULITE 2000)
38,7 ng/ml (IMMULITE – LKMB)

Methodenvergleich 2: 125 dieser Proben mit Werten unter 10 ng/ml wurden mittels Linearregression separat untersucht. (Siehe Grafik 2.)

(IML 2000) = 0,88 (LKMB) + 0,009 ng/ml
 $r = 0,961$

Mittelwerte:
3,12 ng/ml (IMMULITE 2000)
3,53 ng/ml (IMMULITE – LKMB)

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 el diagnóstico in vitro con el Analizador IMMULITE 2000 — para la determinación 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: **L2KMB2** (200 tests),
L2KMB6 (600 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 reperfusion durante la terapia trombolitica 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 cardíaco. 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;^{2,5} 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 reperfusión.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 CK-MB es un ensayo enzimoimmunométrico 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 coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo 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 2000 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.

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 incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

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

Cartucho de bolas de CK-MB (L2MB12)

Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anti-ligando. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KMB2: 1 cartucho.

L2KMB6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo de CK-MB (L2MBA2)

Con código de barras. 11,5 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. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KMB2: 1 vial. **L2KMB6:** 3 viales.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizando en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de CK-MB (LMBL, LMBH)

Dos viales (bajo y alto) CK-MB liofilizada en una matriz de suero no humano, con conservante. 30 minutos, como mínimo, antes de su uso: Reconstituya cada vial con **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave. Alicuote y congele tras su reconstitución. Estable a –20°C durante 2 meses (aliquotados).

L2KMB2: 1 juego. **L2KMB6:** 2 juegos.

Antes de procesar ajustadores, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Para la dilución de las muestras del paciente que van a analizarse. Un vial concentrado, Matriz proteica no humana en solución tampón (listo para su uso),

con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse o estable a –20°C durante 6 meses.

L2M2Z: 25 ml. **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente.

Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 x 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.

L2M2Z: 3 etiquetas

L2M2Z4: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

L2ZT: 250 Tubos de Diluyente de la Muestra (16 x 100 mm)

L2ZC: 250 Taponnes para Tubo del Diluyente de la Muestra

CCCM: Módulo control de marcadores cardíacos que contiene CK-MB.

También necesarios:

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; 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 2000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

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 2,6 ng/ml, y un percentil 99 superior de 4,8 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 2,3 ng/ml, con un percentil 97,5 superior de 5,7 ng/ml y un percentil 99 superior de 7,2 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 ocasiona 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. (A menos que se especifique lo contrario, todos los resultados se generaron sobre muestras recogidas en tubos heparinizados.)

Factor de Conversión: ng/ml \times 1 \rightarrow μ g/l

Intervalo de calibración: Hasta 500 ng/ml.

Sensibilidad: 0,6 ng/ml.

Efecto de gancho a altas dosis:

Ninguno hasta 200 000 ng/ml.

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Véase la tabla "Precision").

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

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de CK-MB (500, 2 000 y 7 000 ng/ml). (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para CK-MB, con baja reacción cruzada para otras isoenzimas de creatín quinasa. (Véase la tabla "Specificity").

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

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 512 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos, en concentraciones hasta 3 000 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Tipo alternativo de muestra: Para determinar si el suero se puede utilizar en la técnica IMMULITE 2000 CK-MB, se recogió sangre de 36 voluntarios en tubos normales y tubos heparinizados. Todas las muestras se cargaron con CK-MB y luego examinadas mediante el ensayo de CK-MB de IMMULITE 2000, obteniendo los siguientes resultados.

(Suero) = 0,96 (Heparina) + 2,9 ng/ml
r = 0,993

Medias:
122 ng/ml (Heparina)
120 ng/ml (Suero)

Se ha llevado a cabo otro estudio con 44 muestras de voluntarios aparentemente sanos:

(Suero) = 1,02 (Heparina) + 0,03 ng/ml
r = 0,995

Medias:
1,44 ng/ml (Heparina)
1,49 ng/ml (Suero)

Comparación de los métodos 1: El ensayo se ha comparado con el CK-MB IMMULITE (LKMB) de DPC en 190 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente hasta 500 ng/ml. Véase el gráfico 1). Por regresión lineal:

$$(IML\ 2000) = 1,04\ (LKMB) - 0,82\ ng/ml$$
$$r = 0,998$$

Medias:

39,5 ng/ml (IMMULITE 2000)
38,7 ng/ml (IMMULITE – LKMB)

Comparación de los métodos 2: 125 de esas muestras, con valores menores de 10 ng/ml, fueron analizadas por regresión lineal separadamente. (Véase el gráfico 2.)

$$(IML\ 2000) = 0,88\ (LKMB) + 0,009\ ng/ml$$
$$r = 0,961$$

Medias:

3,12 ng/ml (IMMULITE 2000)
3,53 ng/ml (IMMULITE – LKMB)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con su distribuidor nacional.

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

Français

IMMULITE 2000 CK-MB

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la CK-MB (enzyme créatine kinase MB) dans le plasma hépariné et le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'analyseur IMMULITE 2000 et constitue une aide pour le suivi des patients et l'évaluation du pronostic de l'infarctus du myocarde.

Référence catalogue : **L2KMB2** (200 tests), **L2KMB6** (600 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.¹⁵ 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^{2,5} 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 2000 CK-MB est un dosage immunométrique chimiluminescent par amplification enzymatique 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 lipémiques 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 2000 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.

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. Éliminer 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.

Remarque : les anticorps dirigés contre la CK-MB utilisés dans cette technique sont brevetés par l'Université de Washington.

Cartouche de billes CK-MB (L2MB12)

Avec code-barre. 200 billes revêtues d'un anti-ligand. Stables à +2°C/+8°C jusqu'à la date d'expiration.

L2KMB2: 1 cartouche.

L2KMB6: 3 cartouches.

Cartouche à réactif CK-MB (L2MBA2)

Avec code-barre. 11.5 mL d'anticorps monoclonal murin anti-CK-MB marqué par un ligand et d'anticorps monoclonal murin anti-CK-BB marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un

tampon. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date d'expiration.

L2KMB2: 1 cartouche.

L2KMB6: 3 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs CK-MB (LMBL, LMBH)

2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») lyophilisés dans une matrice de sérum non humain, avec conservateur. 30 minutes au moins avant utilisation, reconstituer chaque flacon avec **4.0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger *doucement*. Aliquoter et congeler après reconstitution : stable pendant 2 mois (aliquoté) à -20°C.

L2KMB2: 1 jeu. **L2KMB6**: 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques. Un flacon contenant une matrice concentrée de tampon / sérum non humain avec conservateur (prêt à l'emploi). Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4**: 55 ml

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16x100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.

L2M2Z : 3 étiquettes

L2M2Z4 : 5 étiquettes

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 x 100 mm)

L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

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

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; 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 IMMULITE 2000.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

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 de référence

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 2,6 ng/ml et une limite supérieure au 99^{ème} percentile de 4,8 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 2,3 ng/ml, une limite supérieure au 97,5^{ème} percentile de 5,7 ng/ml et une limite supérieure au 99^{ème} percentile de 7,2 ng/ml.

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devra 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 rares sérums 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. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons prélevés sur tubes héparinés.)

Facteur de conversion : ng/ml \times 1 \rightarrow μ g/l

Intervalle de linéarité :
jusqu'à 500 ng/ml.

Sensibilité analytique : 0,6 ng/ml.

Accoutumance aux doses élevées :
aucun jusqu'à 200 000 ng/ml.

Précision : les échantillons sont dosés en duplicata sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 replicata au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : des échantillons dosés ont été chargés dans une proportion de 1 à 19 avec trois solutions de CK-MB (500, 2 000 et 7 000 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 ».)

Bilirubin : Peut diminuer les valeurs. (Voir le tableau "Bilirubin".)

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 512 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : pour déterminer si le sérum peut être utilisé avec la méthode IMMULITE 2000 CK-MB, du sang a été prélevé auprès de 36 volontaires dans des tubes vacutainer secs et héparinés. Tous les échantillons ont été dosés avec le test IMMULITE 2000 CK-MB avec les résultats suivants :

(Sérum) = 0,96 (Héparine) + 2,9 ng/ml
 $r = 0,993$

Moyennes:
122 ng/ml (Héparine)
120 ng/ml (Sérum)

Une étude séparée sur 44 échantillons provenant de volontaires sains a été également réalisée.

(Sérum) = 1,02 (Héparine) + 0,03 ng/ml
 $r = 0,995$

Moyennes:
1,44 ng/ml (Héparine)
1,49 ng/ml (Sérum)

Comparaison de méthode 1: Le dosage a été comparé au test IMMULITE CK-MB (LKMB) de DPC sur 190 échantillons (dont les concentrations allaient jusqu'à environ 500 ng/ml. Voir le graphique 1.) Par régression linéaire:

(IML 2000) = 1,04 (LKMB) – 0,82 ng/ml
 $r = 0,998$

Moyennes:
39,5 ng/ml (IMMULITE 2000)
38,7 ng/ml (IMMULITE – LKMB)

Comparaison de méthode 2: Cent vingt-cinq de ces échantillons, avec des valeurs inférieures à 10 ng/ml, ont été analysés par régression linéaire séparément. (Voir le graphique 2.)

(IML 2000) = 0,88 (LKMB) + 0,009 ng/ml
r = 0,961

Moyennes:

3,12 ng/ml (IMMULITE 2000)

3,53 ng/ml (IMMULITE – LKMB)

Assistance technique

Contactez votre distributeur national. 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

Uso: Per prove diagnostiche *in vitro* con l'analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'isoenzima MB della 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: **L2KMB2** (200 test), **L2KMB6** (600 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 sottounità 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. Nel muscolo scheletrico, d'altro canto, costituisce invece soltanto l'1% o meno dell'attività, perché la CK-MM è la forma dominante, benché 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 (benché non sia completamente specifica), con ruoli ben precisi nella conferma dell'infarto acuto del miocardio (AMI) e nel monitoraggio della ripercussione 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;^{2,5} o 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 ripercussione.

Principio del Metodo

L'IMMULITE 2000 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' consigliata un'ultracentrifuga per eliminare i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson 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 di 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 2000 CK-MB non é 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 di siero.

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 universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi

ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'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 unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

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

Contenitore di Sferette CK-MB (L2MB12)

Con codice a barre. 200 biglie coattate con anti-ligando. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KMB2: 1 confezione.

L2KMB6: 3 confezioni.

Porta Reagente CK-MB (L2MBA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di un 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. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KMB2: 1 Porta Reagente.

L2KMB6: 3 Porta Reagenti.

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

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'utilizzo, ricostituire ogni flacone

aggiungendo **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando o capovolgendo *delicatamente*. Aliquotare e congelare dopo la ricostituzione: stabile per 2 mesi (aliquotato) a -20°C .
L2KMB2: 1 set. **L2KMB6**: 2 set.

Prima di eseguire i calibratori ricalibrare collocare le etichette giuste sulle aliquote (fornite col kit) sulle provette cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

I componenti dei kit sono forniti separatamente

Multi-Diluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Per la diluzione sul luogo dei campioni dei pazienti. Un flacone di tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso) con conservanti. Stabile a $2-8^{\circ}\text{C}$ per 30 giorni dopo l'apertura o a -20°C per 6 mesi (aliquotato).

L2M2Z: 25 mL. **L2M2Z4**: 55 mL

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluyente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16×100 mm cosicché i codici a barre possano essere letti dal lettore interno

L2M2Z: 3 etichette

L2M2Z4: 5 etichette

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

L2ZT: 250 Provette (16×100 mm) per Diluyente del Campione

L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluyente del Campione

CCCM: Modulo di Controllo del marcatore cardiaco contenente la CK-MB

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; Provette; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore dell'IMMULITE 2000.

Vedere il manuale dell'operatore IMMULITE 2000 per: la preparazione, la messa a punto, la regolazione, la prova ed i procedimenti per il controllo della qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
2 settimane.

Campioni per il controllo della qualità:

Usare i controlli o campioni di campioni con almeno due livelli (basso ed alto) del 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 $0,9 \text{ ng/mL}$, un valore al $97,5^{\circ}$ percentile superiore di $2,6 \text{ ng/mL}$ ed un valore al 99° percentile superiore di $4,8 \text{ ng/mL}$.

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 $2,3 \text{ ng/mL}$ con un valore al $97,5^{\circ}$ percentile superiore di $5,7 \text{ ng/mL}$ ed un valore al 99° percentile superiore di $7,2 \text{ ng/mL}$.

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. (Se non è notato altrimenti, tutti i risultati sono stati generati nei campioni raccolti in provette eparinizzate.)

Fattore di Conversione:

ng/mL \times 1 \rightarrow μ g/L

Gamma di calibrazione: Fino a 500 ng/mL.

Sensibilità analitica: 0,6 ng/mL.

Effetto di dosi forti:

Nessun effetto fino a 200 000 ng/mL.

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio da 20 giorni, due esecuzioni al giorno, per un totale di 40 esecuzioni e 80 ripetizioni. (Vedere la tabella "Precision")

Linearità: I campioni sono stati provati sotto varie diluzioni (Vedere la tabella "Linearity" per i dati rappresentativi).

Ricupero: Sono stati analizzati i campioni etichettati da 1 a 19 con tre soluzioni di CK-MB (500, 2 000 e 7 000 ng/mL) di CK-MB (Vedere la tabella "Recovery" per i dati rappresentativi).

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

Bilirubina: Causa una depressione dei valori. (Vedere la tabella "Bilirubin").

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 512 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun 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

2000, è stato prelevato del sangue da 36 volontari in provette eparinizzate e semplici. La CK-MB è stata aggiunta a tutti i campioni; poi i campioni sono stati analizzati con il dosaggio CK-MB IMMULITE 2000, ottenendo i seguenti risultati.

(Siero) = 0,96 (Eparina) + 2,9 ng/mL
 $r = 0,993$

Valore medio:
122 ng/mL (Eparina)
120 ng/mL (Siero)

E' stato condotto uno studio separato su 44 campioni endogeni provenienti da volontari sani.

(Siero) = 1,02 (Eparina) + 0,03 ng/mL
 $r = 0,995$

Valore medio:
1,44 ng/mL (Eparina)
1,49 ng/mL (Siero)

Paragone dei metodi 1: La prova è stata paragonata al IMMULITE CK-MB (LKMB) della DPC in 190 campioni di pazienti. (Gamma di concentrazione: fino a 500 ng/mL circa. Vedere la grafica 1.)
Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,04 (LKMB) - 0,82 ng/mL
 $r = 0,998$

Valore medio:
39,5 ng/mL (IMMULITE 2000)
38,7 ng/mL (IMMULITE - LKMB)

Paragone dei metodi 2: Sono stati dosati separatamente centoventicinque di questi campioni, con valori inferiori a 10 ng/mL. (Vedere la grafica 2.)

(IML 2000) = 0,88 (LKMB) + 0,009 ng/mL
 $r = 0,961$

Valore medio:
3,12 ng/mL (IMMULITE 2000)
3,53 ng/mL (IMMULITE - LKMB)

Assistenza Tecnica

All'estero si prega di contattare il proprio Distributore 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 *in vitro* da creatina quinase MB (CK-MB) em plasma

heparinizado ou soro no auxílio do controlo do doente e na avaliação do prognóstico do enfarte do miocárdio, em conjunto com o Analisador IMMULITE 2000.

Números de catálogo: **L2KMB2** (200 testes), **L2KMB6** (600 testes)

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

Sumário e explicação do teste

A creatina quinase (CK) é uma enzima encontrada principalmente no tecido muscular e cerebral, que existe como três isoenzimas diméricas – CK-MM (CK-3), CK-MB (CK-2), e CK-BB (CK-1) – elaboradas a partir de subunidades designadas como M e B. A 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, com CK-MM como a forma dominante, embora a percentagem possa chegar a 10% em condições que reflectam regeneração e dano muscular esquelético (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;^{2,5} 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 2000 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 fotões 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 2000 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.

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, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antigénio 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 deionizada.

Materiais Fornecidos

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

Note que os anticorpos para CK-MB utilizados no procedimento foram

licenciados pela Universidade de Washington.

Embalagem de pérolas de CK-MB (L2KMB12)

Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com antiligante. Estável até a data de validade a 2–8°C.
L2KMB2: 1 embalagem.
L2KMB6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagente de CK-MB (L2MBA2)

Com código de barras. Contém 11,5 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. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KMB2: 1 embalagem.
L2KMB6: 3 embalagens.

Antes de utilizar, retire a etiqueta de protecção da tampa deslizante; levante a tampa, remova o remanescente da etiqueta com o cuidado de não danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, encaixe a tampa deslizante nas ranhuras e verifique se a tampa desliza.

Ajustes CK-MB (LMBL, LMBH)

Contém dois frascos (nível alto e baixo) de CK-MB 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.

L2KMB2: 1 conjunto.
L2KMB6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multi-Diluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Para a diluição no aparelho de amostras de doentes. Um frasco de concentrado

(pronto a usar), matriz protéica tamponizada de origem não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 mL. **L2M2Z4:** 55 mL

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente.

Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 x 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

L2M2Z: 3 etiquetas

L2M2Z4: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 x 100 mm)

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

CCCM: Módulo de Controlo de Marcador Cardíaco contendo CK-MB

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento de doseamento

Têr 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 2000.

Consulte o Manual do Operador de IMMULITE 2000 para para instruções sobre preparação, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

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

2,6 ng/mL num percentil superior de 97,5 e o valor médio de 4,8 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 2,3 ng/mL, com o valor superior de 5,7 ng/mL num percentil de 97,5 e de 7,2 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 Boscatto 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 interações 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. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras colhidas em tubos heparinizados.)

Factor de conversão: ng/mL x 1 → µg/L

Calibração: Até 500 ng/mL.

Sensibilidade Analítica: 0,6 ng/mL.

Efeito Hook de Alta Dose:

nenhum até 200 000 ng/mL.

Precisão: Amostras foram processadas em duplicado num período de 20 dias, dois ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob várias diluições. (Consulte a tabela "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções CK-MB (500, 2 000 e 7 000 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

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

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

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 512 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de trigliceridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de Amostra Alternativa: Para determinar se o soro pode ser usado no procedimento CK-MB de IMMULITE 2000, o sangue de 36 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 2000, com os seguintes resultados.

(Soro) = 0,96 (Heparina) + 2,9 ng/mL
r = 0,993

Médias:

122 ng/mL (Heparina)

120 ng/mL (Soro)

Também foi efectuado um estudo em 44 amostras endógenas de voluntários saudáveis.

(Soro) = 1,02 (Heparina) + 0,03 ng/mL
r = 0,995

Médias:

1,44 ng/mL (Heparina)

1,49 ng/mL (Soro)

Comparação de Métodos 1: O doseamento foi comparado ao CK-MB IMMULITE (LKMB) da DPC em 190 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente até 500 ng/mL. Consulte o gráfico 1.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,04 (LKMB) – 0,82 ng/mL
r = 0,998

Médias:

39,5 ng/mL (IMMULITE 2000)

38,7 ng/mL (IMMULITE – LKMB)

Comparação de Métodos 2: Cento e vinte e cinco destas amostras, com valores menores que 10 ng/ml, foram analisadas separadamente, por regressão linear. (Consulte o gráfico 2.)

(IML 2000) = 0,88 (LKMB) + 0,009 ng/mL
r = 0,961

Médias:

3,12 ng/mL (IMMULITE 2000)

3,53 ng/mL (IMMULITE – LKMB)

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

PIL2KMB – 12



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