



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

Isoenzyme CK-MB Méthode d'immuno-inhibition

Réactif pour le dosage quantitatif de l'isoenzyme
CK-MB (CK-2) de la créatine kinase [EC 2.7.3.2] dans le sérum humain

REF 97217	R1 10 x 3 mL	R2 1 x 30 mL
REF 97317	R1 8 x 20 mL	R2 8 x 20 mL

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

support@biolabo.fr

Dernière révision : www.biolabo.fr



Made In France

I : correspond aux modifications significatives

USAGE PREVU

Ce réactif est réservé pour un usage professionnel en laboratoire (méthode automatisée).

Il permet de quantifier l'activité de l'isoenzyme CK-MB (CK-2) de la créatine kinase [EC 2.7.3.2] dans le sérum humain.

GENERALITES (1)

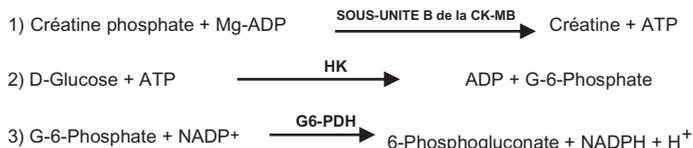
En l'absence de pathologie, la majorité de l'activité CK dans le sérum est due à la CK-MM. L'infarctus du myocarde s'accompagne d'une augmentation transitoire du taux de CK-MB dans le sérum. Celui-ci augmente dans les 4 à 6 h suivant le début de la crise, puis atteint un pic dans les 12 à 24 h et revient à une valeur normale dans les 48 h.

PRINCIPE (4) (5)

Un anticorps polyclonal (spécifique du monomère CK-M) présent dans le réactif inhibe la totalité de l'activité CK-MM et la moitié de l'activité CK-MB.

Seule l'activité de la sous-unité B non-inhibée, représentant la moitié de l'activité CK-MB, est mesurée. Cette méthode prend en compte que l'activité CK-BB dans le spécimen est négligeable.

Le schéma réactionnel est le suivant :



L'augmentation de l'absorbance due à la conversion du NADP⁺ en NADPH, mesurée à 340 nm, est proportionnelle à l'activité CK-MB dans le spécimen.

PRECAUTIONS

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

! Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Spectrophotomètre thermostaté ou analyseur de biochimie clinique
2. Equipement de base de laboratoire

PREPARATION DES REACTIFS

Flacon R1 : Utiliser un objet non coupant pour enlever la capsule.

REF 97217 : verser 3 mL de tampon R2 dans le flacon R1

REF 97317 : verser le contenu du flacon R1 dans le flacon R2.

Mélanger doucement jusqu'à dissolution.

REACTIFS

R1	CKMB SUBS	Enzymes Substrat
	Créatine Phosphate	30 mmol/L
	D-Glucose	20 mmol/L
	N-Acétyle-L-cystéine	20 mmol/L
	AMP	5 mmol/L
	ADP	2 mmol/L
	NADP	2 mmol/L
	AP5A	10 µmol/L
	G-6-PDH (Glucose-6-phosphate déshydrogénase)	> 2500 UI/L
	HK (Hexokinase)	> 3000 UI/L

Avant reconstitution :

Attention : Skin Irrit. 2 : H315 – Provoque une irritation cutanée

STOT SE 3 : H335 – Peut irriter les voies respiratoires

Acute Tox. 4 : H302+H312+H332 – Nocif en cas d'ingestion, par contact cutané, par inhalation

Eye Irrit. 2 : H319 - Provoque une sévère irritation des yeux

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage, P264 : Se laver les mains soigneusement après manipulation, P501 : éliminer le contenu et le récipient conformément à la réglementation sur les déchets dangereux. Substance à l'origine de la classification : Créatine phosphate 25 - < 50%. Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

R2	CKMB BUF	Tampon
	Imidazole Acétate, pH 6,8 à 30°C	100 mmol/L
	EDTA Na2	2 mmol/L
	Acétate de Magnésium	10 mmol/L
	Anticorps polyclonal Anti CK-M humaine : (inhibe qsp 2000 U/L de CKM)	
	Contient aussi des stabilisants et excipients.	

Danger : Repro. 1B : H360 - Susceptible de nuire à la fertilité ou au fœtus

P202 : Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité, P308+P313 : En cas d'exposition prouvée ou suspectée : Consulter un médecin, P405 : Garder sous clef, P501 : éliminer le contenu et le récipient conformément à la réglementation sur les déchets dangereux. Substance à l'origine de la classification : Imidazole < 1% Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

Après reconstitution : Le Réactif de travail (R1+R2) est classé comme R2.

STABILITE ET CONSERVATION

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :

- jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après ouverture :

- Reconstituer le réactif R1 immédiatement après ouverture

Après reconstitution :

- Transférer la quantité utile et stocker le flacon d'origine à 2-8°C.
- Le réactif de travail est stable 3 semaines.
- Rejeter tout réactif trouble ou si le blanc réactif à 340 nm > 0,700.
- Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption.

Fabricant	Date de péremption	In vitro diagnostic	Température de conservation	Eau déminéralisée	Risque biologique
Référence Produit	Consulter la notice	Numéro de lot	Stocker à l'abri de la lumière	Suffisant pour	Diluer avec

CALIBRATION

- **REF** 95506 HDL LDL CK-MB Calibrateur traçable sur Masterlot interne.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

CONTRÔLE DE QUALITE

- **REF** 95516 Contrôle HDL LDL CK-MB Taux 1
- **REF** 95526 Contrôle HDL LDL CK-MB Taux 2
- Programme externe de contrôle de la qualité
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série
- Au moins un contrôle par 24 heures
- Changement de flacon de réactif
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Préparer un sérum de contrôle frais et répéter le test.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un flacon de calibrant frais.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, répéter le test en utilisant un autre flacon de réactif.

Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (1) (2)

Sérum non hémolysé. Conserver à 2-8°C dans un récipient hermétique pour prévenir les pertes en CO₂.

Le plasma n'est pas recommandé, les anticoagulants comme l'héparine, l'EDTA, le citrate ou le fluorure interférant avec le dosage.

Dans les cas de suspicion d'infarctus du myocarde, il est recommandé de prélever le patient après 6 h, 12 h et 24 h ; le nombre minimum de prélèvements: 12 h et 24 h après l'apparition des symptômes.

La CK-MB est stable dans le sérum 4 à 8 h à température ambiante, 1 à 2 jours à 2-8°C, 1 mois à -20°C.

LIMITES (1) (3) (4) (5)

En cas d'hémolyse, l'adénylate kinase et autres intermédiaires de la réaction comme l'ATP (adénosine tri-phosphate) ou le glucose-6-Phosphate (G₆P) peuvent interférer.

CK-BB : peut interférer avec le test (rarement présente dans le sérum). **Isoenzymes atypiques** : interférence possible (par exemple un complexe CK-BB et immunoglobuline G, plus fréquent chez la femme âgée). Cependant la présence de ces isoenzymes atypiques ne diminue en rien la valeur du test car leurs taux restent stables alors que dans l'infarctus du myocarde, la valeur de la CK-MB augmente puis revient rapidement à la normale après 48 h.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

CK-MB	à 30°C < 16 UI/L	à 37°C < 25 UI/L
CK-MB/CK (%)	Un ratio entre 6 et 25% est significatif d'une nécrose tissulaire du muscle cardiaque, En cas de suspicion d'infarctus du myocarde, les valeurs CK-MB augmenteront et retourneront à la normale dans les 48 h,	

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres intervalles de références pour la population concernée,

REFERENCES

- (1) *TIETZ N.W. Textbook of clinical chemistry, 3rd Ed, C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 664-667, 1185-1190.*
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 310-315*
- (3) *YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed, (1995) p. 3-189 à 3-190*
- (4) *Mattenheimer H, CK- MB Methods and clinical significance; Proceedings of the CK- MB symposium, Philadelphia, 1981; 51-57*
- (5) *Stein W, CK- MB methods and clinical significance; Proceedings of the CK- MB symposium, Philadelphia, 1981; 61-74,*
- (6) *National Committee for Clinical Laboratory Standards, User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices, NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T*

PERFORMANCES

Sur Kenza 240TX, 37°C, 340 nm

Domaine de mesure : entre 11 UI/L et 800 UI/L

Limite de détection : environ 3 UI/L.

Précision :

Intra-série N = 20	Taux bas	Taux moyen	Taux élevé	Inter-série N = 20	Taux bas	Taux moyen	Taux élevé
Moyenne (UI/L)	22,7	44,9	170	Moyenne (UI/L)	23,3	45,4	169,2
S.D.	0,9	1,0	2,6	S.D.	1,1	1,3	3,1
C.V. %	3,8	2,1	1,5	C.V. %	4,7	2,8	1,9

Comparaison avec réactif du commerce :

Etude sur spécimens humains (n=100) compris entre 10 à 750 UI/L

$$y = 0,9684 x + 0,4074 \quad r = 0,9994$$

Interférences :

Bilirubine totale	Interférence négative à partir de 276 µmol/L
Bilirubine directe	Pas d'interférence jusqu'à 443 µmol/L
Acide ascorbique	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 9,8 g/L
Turbidité	Pas d'interférence de la turbidité
Hémoglobine	Interférence positive à partir de 38 µmol/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Interférences)

Stabilité à bord : 2 semaines

Stabilité de la calibration : 7 jours

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance

MODE OPÉRATOIRE

Méthode manuelle

Ramener les réactifs et échantillons à température ambiante.

Introduire dans une cuve de lecture de 1 cm de trajet optique :	
Réactif	1 mL
Laisser la température s'équilibrer à 37°C puis ajouter :	
Spécimen	50 µL
Mélanger, Après 5 minutes, enregistrer ΔAbs/min à 340 nm toutes les minutes pendant 5 minutes. Calculer la moyenne des ΔAbs/min	

1. Les performances en technique manuelle devront être établies par l'utilisateur.
2. Les applications Kenza et d'autres propositions d'applications sont disponibles sur demande.

CALCUL

Avec calibrant:

$$\text{Activité CK-MB} = \frac{(\Delta\text{Abs/min}) \text{ Dosage}}{(\Delta\text{Abs/min}) \text{ Calibrant}} \times \text{Concentration du Calibrant}$$

Avec facteur théorique :

$$\text{Activité en UI/L} = \Delta\text{Abs/min} \times \text{Facteur}$$

$$\text{Facteur} = \frac{\text{VR} \times 1000}{6,3 \times \text{VE} \times \text{P}}$$

Où :
VR = Volume réactionnel total en mL
VE = Volume Echantillon en mL
6,3 = Coefficient d'extinction molaire du NADH à 340nm
P = Trajet optique en cm,

Exemple, en technique manuelle,

(1 cm de trajet optique, à 37°C, 405 nm):

$$\text{UI/L} = (\Delta\text{Abs/min}) \times 6667$$

$$\mu\text{Kat/L} = \frac{\text{IU/L}}{60}$$

Le facteur de calcul tient compte du fait que la CK-MB est égale à 2 fois l'activité CK-B