

REF 10226-4 4 x 28 ml / 7 ml

RÉACTIF CRÉATINE KINASE-MB (CKMB)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 28 ml de réactif R1 et de 7 ml de réactif R2.

DOMAINE D'UTILISATION PRÉVUE

Le réactif CKMB EasyRA permet de déterminer la quantité de créatine kinase MB (CKMB) dans le sérum et le plasma humains, grâce à « l'analyseur chimique Medica EasyRA® » dans les laboratoires cliniques. Les mesures de l'activité de la CK-MB permettent le diagnostic et le traitement de l'infarctus du myocarde et de maladies musculaires telles que la myopathie de Duchenne. Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

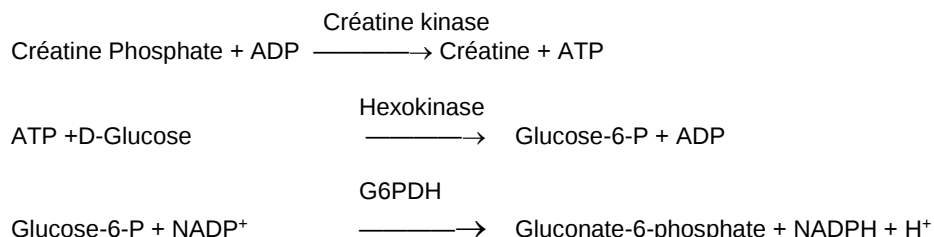
RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La créatine kinase (CK) est un groupe de molécules dimériques composées de sous-unités M et B et existant sous la forme d'iso-enzymes MM, MB et BB.¹ Les sous-unités M et B sont immunologiquement distinctes. La CK-MM et la CK-MB sont principalement réparties dans les muscles squelettiques et cardiaques, respectivement, tandis que la CK-BB se trouve essentiellement dans le cerveau et les tissus composés de muscles lisses.² La détermination de l'activité de la CK-MB sériques est un élément important dans le diagnostic de l'ischémie myocardique, c'est-à-dire dans l'infarctus aigu du myocarde, la myocardite, etc.^{3,4} La CK-MB est détectable dans le sang environ 3-8 heures après le déclenchement des symptômes cardiaques et peut le rester pendant une période prolongée, selon l'évolution de la pathologie.³

Un taux élevé de CK-MB n'est pas spécifique à l'infarctus du myocarde et peut être détecté dans d'autres pathologies. Lorsque les valeurs de la CK-MB sont élevées, elles doivent être interprétées en conjonction avec la présentation clinique et les antécédents médicaux.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Dans cette procédure, l'activité de la CK est mesurée en présence d'un anticorps du monomère de la CK-M. Cet anticorps inhibe les sous-unités M de la CK-MM et de la CK-MB, permettant ainsi de déterminer la sous-unité B de la CK-MB (en supposant l'absence de la CK-BB). La concentration catalytique de la CK-B, qui correspond à la moitié de la concentration de la CK-MB, est déterminée à partir du taux de formation du NADPH, mesuré à 340 nm, en utilisant la série de réactions suivante :



L'activité de la CK-MB est obtenue en multipliant l'activité de la CK-B par deux.

RÉACTIFS

Réactif R1 (tampon réagissant à la CK-MB) :

Tampon imidazole (pH 6,3)	50 mmol/l
Glucose	20 mmol/l
N-acétyl-L-cystéine	20 mmol/l
Acétate de magnésium	10,0 mmol/l
NADP	2,0 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
Hexokinase	5,0 kU/l
LDH	1,5 kU/l
Azoture de sodium	<0,1 %
Anticorps monoclonal (souris) contre la CK-M humaine, capacité d'inhibition	

Réactif R2 (substrat réagissant à la CK-MB) :

Tampon imidazole (pH 9,0)	50 mmol/l
Créatine phosphate	150 mmol/l
ADP	10 mmol/l
AMP	20 mmol/l
Diadénosine pentaphosphate	50 µmol/l
Glucose-6-PDH	20 kU/l
Azoture de sodium	<0,1 %

PRÉCAUTIONS

- 1 Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
- 2 Ce produit contient des conservateurs à base d'azoture de sodium. Ne pas ingérer et éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses. En cas de contact avec la peau, rincer abondamment la zone concernée. En cas d'ingestion ou de contact avec les yeux, consulter immédiatement un médecin. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
- 3 Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
- 4 Utiliser uniquement des cuvettes à usage unique.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C. Le réactif, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

Prélèvement des échantillons, stockage/ stabilité

Utiliser du sérum / plasma clair et non hémolysé. Le plasma peut être issu de sang prélevé avec de l'héparine de lithium comme anticoagulant. Passer à la centrifugeuse et extraire le sérum / plasma le plus tôt possible après le prélèvement. La CK-MB sérique / plasmatique est stable pendant 3 jours entre 2 et 8 °C.

PROCÉDURE**Matériel fourni**

Cartouche de réactif Medica CKMB, REF 10226

Matériel auxiliaire nécessaire

Matériel de contrôle disponible sur le marché

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, REF 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, REF 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica - Chimie, REF 10661

Mode d'emploi

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif à bord (30 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : Vérifier l'absence de mousse au niveau des collets de la cartouche après avoir retiré les bouchons et placé la cartouche sur l'analyseur. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test. Utiliser des écouvillons ou pipettes jetables différents pour R1 et R2.

Étalonnage

Non applicable.

Contrôle qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à chaque dosage quotidiennement, à chaque test patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. En outre, le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur chimique Medica EasyRA calcule la concentration en CK-MB à partir des modifications de l'absorbance par minute, du volume de l'échantillon, du volume réactionnel total, de la longueur de cheminement de 0,6 cm et de l'absorptivité molaire de 6,22.

$$\text{CK-MB (U/l)} = \text{CK-B (U/l)} \times 2 = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total } (\mu\text{l}) \times 1000) \times 2}{(\text{Absorptivité molaire} \times \text{Longueur de cheminement (cm)} \times \text{Volume d'échantillon } (\mu\text{l}))}$$

L'activité de la CK-B, mesurée en unité par litre (U/l), représente la quantité enzymatique responsable de l'oxydation de 1 $\mu\text{mol/l}$ de NADP par minute.

Valeurs attendues⁶

L'intervalle des valeurs de référence pour l'activité de la CK-MB dans l'analyseur EasyRA est inférieur à 24 U/l.^{7,8} Cet intervalle a été validé par Medica, conformément à la norme CLSI C28-A3c. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Utiliser uniquement des échantillons de sérum ou de plasma non hémolysé.

Si les modifications de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{Min}$) sont supérieures à 0,003, correspondant à environ 100 U/l, l'analyseur le signale par les lettres « SD » (déplétion du substrat). Les modifications de l'absorbance par minute supérieures à cette valeur sont situées en dehors de l'intervalle de linéarité du test. Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec le cinquième (1/5) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de la CK-MB jusqu'à 500 U/l.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES⁹

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 5 et 100 U/l. Il est compris entre 5 et 500 U/l lorsque 1/5 de l'échantillon est utilisé (dilution à 1:4).

Inexactitude/corrélation (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison entre le réactif CK-MB Medica (Y) avec l'analyseur EasyRA et un réactif CK-MB validé par la FDA (X) avec l'analyseur Stanbio Sirrus®. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus sur l'analyseur EasyRA par rapport à la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double sur un dispositif validé par la FDA.

SERUM	Nombre d'échantillons	41	Intervalle d'échantillons	6 à 100 U/l
	Courbe	0,9869	Intersection avec l'axe des Y	0,4702
	Coefficient de corrélation	0,9961	Équation de régression	$0,9869 \times X + 0,4702$

* Sirrus est une marque déposée de Stanbio Laboratory LLP, 1261 North Main St. Boerne, TX 78006, USA

Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus pour le plasma (héparine de lithium) versus la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double sur l'analyseur chimique EasyRA. Tous les paramètres de test sont identiques.

PLASMA	Nombre d'échantillons	57	Intervalle d'échantillons	5 à 96 U/l
	Courbe	0,9797	Intersection avec l'axe des Y	1,4523
	Coefficient de corrélation	0,9945	Équation de régression	$0,9797 \times X + 1,4523$

Imprécision (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :			Imprécision totale :		
Taux du CQ	Intra-série DS	Intra-série CV	Taux du CQ	Imprécision totale DS	Imprécision totale CV
U/l	U/l	%	U/l	U/l	%
94	0,9	0,9	94	1,7	1,8
30	0,7	2,4	30	0,9	3,0
14	0,6	3,9	14	0,8	5,5

Linéarité (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 5 et 100 U/l, en fonction de la régression linéaire $Y = 1,0009 \cdot X - 0,2291$.

Limite du blanc (LdB) :	1,7 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limite de détection (LD) :	2,9 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limite de quantification (LQ) :	5,0 U/l	(CLSI, EP17-A)

Substances interférentes (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune interférence significative ».

L'hémoglobine interfère, même à des concentrations minimales. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 25 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 775 mg/dL (à l'aide du produit Intralipid*).

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux d'acide ascorbique allant jusqu'à 30 mg/dL.

**Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord, États-Unis*

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{10,11}

Remarque : Les valeurs obtenues sont susceptibles d'être surestimées si l'activité de l'isoenzyme CK-BB est élevée dans le sérum. L'activité de la CK-BB est généralement absente du sérum chez les individus normaux et les patients souffrant d'un infarctus du myocarde.⁷ La présence d'une forme macroscopique de la CK-BB dans l'échantillon soit être suspectée si l'activité de la CK-MB mesurée par cette procédure représente plus de 20 % de l'activité totale de la CK.

RÉFÉRENCES

- 1 Dawson, D.M. et al., Biochem Biophys. Res. Comm 21:346 (1965).
- 2 Neumeir, D., Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme, Lang, Editor, Springer Verlag, New York, 1981, 85-109.
- 3 Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. Annu Rev Med 1994;45:31-44.
- 4 Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? Circulation 1993;88:750-763.
- 5 D'Souza, J.P., et al., Clin. Biochem 11, 204 (1978).
- 6 Stein, W., Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985;36:572-7.
- 7 Klein G, Berger A, Bertholf R et al. Abstract: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. Clin Chem 2001; 47:Suppl. A30.
- 8 Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
- 9 Data on file at Medica.
- 10 Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, 2nd ed. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 11 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; Effects of drugs on clinical laboratory tests. Clin Chem 21: 246D, 1975.

Paramètres du dosage (CKMB) EasyRA

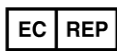
Longueur d'onde principale (nm)	340
Longueur d'onde secondaire (nm)	405
Mode réactionnel	Enzymatique (0)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Non
Blanc de l'échantillon	Non
Modif. max du premier intervalle de l'absorbance	0,003
Durée de la réaction	9,3 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	N/A
Stabilité du réactif à bord	30 jours

Sérum/Plasma

Volume de l'échantillon (µl)	8,0
Volume du diluant (µl)	20
Volume du réactif R1 (µl)	160
Volume du réactif R2 (µl)	40
Emplacements décimaux (valeurs par défaut)	0
Unités (valeur par défaut)	U/l
Facteur de dilution	1:4 (1/5 de l'échantillon utilisé) (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Linéarité	5 à 100 U/l
Absorptivité molaire	6,22



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands