

Uso previsto

Para la determinación cuantitativa de creatina quinasa-MB en suero para procedimientos manuales y/o automatizados. **Rx Only.**

Resumen y principio

La creatina quinasa son moléculas dimericas compuestas por subunidades M y B y existen como isoenzimas MM, MB y BB.¹ Las subunidades M y B son inmunológicamente distintas. La CK-MM y la CK-MB se distribuyen, principalmente, en el músculo esquelético y el músculo cardíaco, respectivamente, mientras que la CK-BB está presente, principalmente, en el cerebro y en los tejidos compuestos por músculo liso.²

Después de un infarto agudo de miocardio, la actividad de CK-MB aumenta significativamente y esta elevación es altamente específica para el diagnóstico de laboratorio de infarto de miocardio.^{3,4} Aunque la actividad de CK total generalmente aumenta después de un infarto de miocardio, en algunos pacientes solo aumenta la actividad de CK-MB, mientras que la CK total se mantiene en un rango normal.⁵

Este método es una prueba UV optimizada según la DGKC (Sociedad alemana de Química Clínica) y la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio). En este procedimiento, la actividad de CK se mide en presencia de un anticuerpo contra el monómero de CK-M. Este anticuerpo inhibe completamente la actividad de CK-MM y la mitad de la actividad de CK-MB, sin afectar a la actividad de la subunidad B de CK-MB y CK-BB. Debido a las concentraciones no significativas de CK-BB en la circulación, la actividad restante, multiplicada por un factor de 2, representa la actividad de la isoenzima CK-MB.

Reactivos

CK-MB (Reactivo R1)

Composición:

Glucosa	20,0 mmol/L
Acetato de magnesio	10,0 mmol/L
EDTA	2,0 mmol/L
Hexoquinasa	5,0 kU/L
LDH	1,5 kU/L
NAC	20,0 mmol/L
NADP	2,0 mmol/L
Disolución amortiguadora de imidazol	50,0 mmol/L
Anticuerpos monoclonales (ratón) contra humanos	
CK-M, capacidad inhibitoria	> 2000 U/L

CK-MB (Reactivo R2)

Composición:

ADP	10,0 mmol/L
AMP	20,0 mmol/L
Pentafosfato de diadenosina	50,0 µmol/L
Fosfato de creatina	150,0 mmol/L G6P-DH
	20 kU/L
Disolución amortiguadora de imidazol	50,0 mmol/L

Precauciones:

Para diagnóstico in vitro

Deben respetarse las precauciones normales para la manipulación de reactivos de laboratorio. No pipetee con la boca. Los reactivos contienen azida sódica que puede ser tóxica si se ingiere. La azida sódica también puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre, formando azidas metálicas altamente explosivas. Véase la ficha de datos de seguridad del material para obtener información actualizada sobre los riesgos, los peligros o la seguridad. Deseche los reactivos usados o caducados según los requisitos gubernamentales y de su laboratorio.

Preparación de los reactivos: Los reactivos líquidos R1 y R2 se suministran listos para usar en analizadores capaces de dispensar 2 reactivos separados. Para los analizadores que no pueden dispensar 2 reactivos o para uso manual, prepare un reactivo de trabajo en una proporción de 4 partes de reactivo R1 por 1 parte de reactivo R2 (es decir, 24 mL de reactivo R1 y 6 mL de reactivo R2).

Almacenamiento y estabilidad de los reactivos: Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad que figura en sus respectivas etiquetas, cuando se almacenan correctamente a una temperatura de 2-8°C y se protegen de la luz. Tanto el reactivo R1 como el R2 deben ser limpios/incolores. Deseche si están turbios o contienen partículas. Una vez preparado y protegido de la luz, el reactivo de trabajo es estable durante 2 semanas a una temperatura de 2-8°C o 24 horas a 15-30°C.

Extracción y almacenamiento de muestras

Todas las muestras utilizadas en esta prueba deben considerarse potencialmente infecciosas. Se deben aplicar las precauciones universales aplicables a su instalación para la manipulación y eliminación de materiales durante y después de la prueba. La muestra de elección es el suero claro no hemolizado. No se requieren aditivos ni conservantes especiales. Siempre que sea posible, las muestras deben separarse y analizarse el día de su extracción. Guarde el suero en tubos tapados. Según se informa, la actividad de CK-MB en suero es estable durante 4 semanas, cuando se almacena en una zona oscura a una temperatura de -20°C. Almacenar a otras temperaturas provocará una pérdida de actividad; después de 24 horas a 2-8°C, < 10%; después de una hora a 15-30°C, < 10%. Las muestras extremadamente hemolizadas no son adecuadas para la prueba, ya que pueden contener altos niveles de adenilato quinasa, ATP y glucosa-6-fosfato, que interfieren con el ensayo y producen falsos resultados.

Sustancias interferentes

El ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, los niveles de bilirubina conjugada hasta 24 mg/dL, los niveles de bilirubina no conjugada hasta 30 mg/dL y los niveles de triglicéridos hasta 1000 mg/dL no muestran interferencias en esta prueba. La hemoglobina interfiere, incluso en concentraciones mínimas (25 mg/dL).⁸ Young et al⁹ revisaron los efectos de los fármacos sobre los niveles séricos de CK-MB. El procedimiento descrito puede sobrestimar los valores de CK-MB si la actividad de CK-BB en el suero es muy alta. Sin embargo, en general, hay ausencia de actividad de CK-BB en los sueros de individuos normales y pacientes con infarto de miocardio.⁹ Algunos investigadores observaron una forma macro de BB (complejo de inmunoglobulina), que puede medirse como B en este ensayo.^{10,11,12} Debe sospecharse la presencia de macro BB en la muestra si la actividad de CK-B medida por este procedimiento representa más del 20% de la actividad total de CK.

Materiales suministrados

Reactivos R1 y R2 de CK-MB

Material necesario no suministrado

Espectrofotómetro capaz de leer la absorbancia a 340 nm y paso de luz de 1 cm, Bloque de temperatura o baño constante, 37°C, o cubeta de temperatura controlada Dispositivos de pipeteo precisos, tubos de ensayo, cronómetro de intervalo

Procedimiento automatizado

Las aplicaciones para analizadores automáticos están disponibles, poniéndose en contacto con el departamento de Soporte Técnico de HORIBA Instruments Inc.

Procedimiento manual

1. Deje que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.
2. Prepare el reactivo de trabajo CK-MB según las instrucciones (véase la sección Preparación del reactivo).
3. Espectrofotómetro de cero a 340 nm con agua destilada.
4. Para cada muestra y control, añada 1,0 mL de reactivo de trabajo a la cubeta o tubo de ensayo e incube a 37°C durante 4 minutos.
5. Añada 40 µL de suero a su respectivo tubo y mezcle suavemente.
6. Lea y registre la absorbancia a los 5 minutos. Continúe incubando a 37°C y registre nuevamente la absorbancia a los 6, 7, 8 y 9 minutos. La tasa debe ser constante.
7. Determine la absorbancia promedio por minuto (A/min), multiplíquela por el factor 8360 (4180 x 2) para obtener resultados en U/L.

NOTA: Si la cubeta no tiene control de temperatura, incube las muestras a 37°C entre lecturas.

Calibración

No se requiere calibración. Si el fabricante del instrumento requiere calibración, siga las pautas de calibración para calibrar su analizador.

Control de calidad

HORIBA Medical recomienda el uso de controles disponibles en el mercado con valores de CK-MB analizados mediante este método para verificar la exactitud y la precisión. Los controles que contienen fracciones de CK-MB no humanas no son adecuados para esta prueba debido al anticuerpo monoclonal que se usa en el reactivo. Utilice controles que contengan exclusivamente CK-MB humana. La actividad de CK-MB determinada en estos materiales mediante este procedimiento debe estar dentro de los rangos de los controles. Cada día de prueba, se deben analizar dos niveles (normal/anormal) de controles.

Conjunto de reactivos (CK – MB) Creatina quinasa Pointe

Resultados

Actividad CK-B: Los valores se obtienen en función del coeficiente de extinción micromolar de absorberencia del NADP a 340 nm (0,00622). Una unidad por litro (U/L) de actividad de CK-B es la cantidad de enzima que oxida un $\mu\text{mol/L}$ de NADP por minuto.

$$\text{Actividad CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min} \times \text{Volumen total (mL)}}{\text{Absortividad} \times \text{Volumen de muestra (mL)}}$$

$$\text{Actividad CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0,00622} \times \frac{1,040}{0,040}$$

$$\text{Actividad CK-B U/L} = \Delta A/\text{Min} \times 4180$$

$$\text{Actividad CK-MB (U/L)} = \text{Actividad CK-B (U/L)} \times 2$$

$$\% \text{ Actividad CK-MB} = \frac{\text{Actividad CK-MB (U/L)} \times 100}{\text{Actividad total CK (U/L)}}$$

Limitaciones

Si el $\Delta A/\text{min}$. es superior a 0,345, diluya 1 parte de muestra con 9 partes de solución salina y vuelva a analizar. Multiplique los resultados por 10. Los valores de CK para pacientes neonatales no se han establecido con este procedimiento.

Valores esperados⁷

<24 U/L (37°C); La actividad de CK-MB está entre el 6 y el 25% de la actividad total de CK. Este rango debe servir solo como una guía. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores esperados, ya que existen diferencias entre instrumentos, laboratorios y poblaciones locales.

Características de rendimiento⁸

Comparación: Se analizó un grupo de 90 sueros mediante el método CK-MB descrito y mediante un reactivo CK-MB similar disponible en el mercado. La comparación de los resultados mostró un coeficiente de correlación de 1,00 y la ecuación de regresión fue $y = 1,00x + 2,08$. Los estudios de comparación se realizaron de conformidad con la directriz provisional EP9-T del NCCLS.

Precisión: La precisión intraserial se estableció mediante 20 ensayos en tres niveles diferentes de controles comerciales. Los valores de precisión total se obtuvieron, analizando 3 controles comerciales durante 5 días consecutivos.

	Intraserial		
	Suero 1	Suero 2	Suero 3
CK-MB Media (U/L)	26,7	46,6	106
Desviación Desviación	0,70	0,85	1,03
CV (%)	2,6	1,8	1,0
	Precisión total		
	Suero 1	Suero 2	Suero 3
CK-MB Media (U/L)	28,2	52,7	109
Desviación Desviación	1,05	1,66	2,32
CV (%)	3,7	3,2	2,1

Los estudios de precisión se realizaron de conformidad con la directriz provisional de NCCLS, EP5-T.










Linealidad: Lineal a 175 U/L a 37°C. Realizado de acuerdo con la directriz EP6-P del NCCLS.

Sensibilidad: Basado en una resolución del instrumento de $A=0,001$, el método presentado muestra una sensibilidad de 2,0 U/L.

Referencias

- Dawson, DM et al., Biochem Biophys. Res. Comm 21: 346 (1965)
- Neumeir, D: Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme, Lang, Editor, Springer Verlag, New York, 1981, 85-109
- Wagner et al, Circulation 47 263 (1973)
- Bais R., Crit. Rev. Clin. Lab Sci. 18 291 (1982)
- D'Souza JP et al, Clin. Biochem. 11 204 (1978)
- Young DS et al. Clin Chem 21 286D, 1975 (Special Edition)
- Stein W. Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985:36:572-7.
- Datos de laboratorio del fabricante.
- Kaehmar, J.F. and Moss, D.W.: Fundamentals of Clinical Chemistry. Tiertz N.W. ed. Saunders, W.B. Co., Philadelphia, 686 (1976).
- Lott J.A., Clin. Lab Med. 6:547 (1986).
- Ljungdahl I., Gerhardt W., "Creatine kinase isoenzyme variants in human serum." Clin Chem 24:832, (1978).
- Urdal P, Landaas S: "Macro-creatine kinase BB in serum, and some data on its prevalence", Clin Chem 25:461, (1979).

Clave de símbolo

 Usar antes de (AAAA-MM-DD)	 LOT Lote y código de lote
 REF Número de catálogo	 Fabricante
 IVD Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Limitación de temperatura
 Consultar instrucciones de uso	Rx Only: Venta exclusiva con receta médica
 Marcado CE	 EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

REF C7563



Fabricado para HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



2°C - 8°C

IVD



Fabricado para HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

EC REP

Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BÉLGICA
Tel.: (+32)2.732.59.54 Fax: (+32)2.732.60.03
e-mail: mail@obelis.net



Certificado para emplear reactivos

Los reactivos Pointe están certificados para ser fabricados de acuerdo con los parámetros especificados. Cualquier producto de reactivo Pointe que no cumpla con las especificaciones hasta la fecha de vencimiento indicada se reparará de inmediato sin cargo.