

| |
|---|
| COD 11792 1 x 50 mL |
| CONSERVAR A 2-8°C |
| Reactivos para medir la concentración de CK-MB Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico |

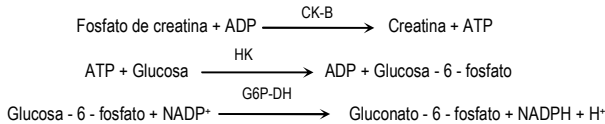
**CREATINE KINASE-MB
(CK-MB)**



CREATINA QUINASA-MB (CK-MB)
Inmunoinhibición

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Un anticuerpo específico inhibe las dos subunidades M de la CK-MM (CK-3) y la única subunidad M de la CK-MB (CK-2), lo que permite la medición de la subunidad B de la de la CK-MB (asumiendo la ausencia de CK-BB o CK-1)^{1,2}. La concentración catalítica de CK-B, que corresponde a la mitad de la actividad CK-MB, se determina empleando las reacciones acopladas de la hexoquinasa (HK) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH), a partir de la velocidad de formación del NADPH, medido a 340 nm³.



COMPOSICIÓN

- A. Reactivo. 1 x 40 mL: Anti-humano-CK-M capaz de inhibir 2000 U/L de CK-M, Imidazol 125 mmol/L, EDTA 2 mmol/L, acetato de magnesio 12,5 mmol/L, D-glucosa 25 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinasa 6800 U/L, NADP 2,4 mmol/L, pH 6,1.
- B. Reactivo. 1 x 10 mL: Fosfato de creatina 250 mmol/L, ADP 15,2 mmol/L, AMP 25 mmol/L, P1, P5-di(adenosina-5')-pentafosfato 103 μmol/L, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa 8800 U/L.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco superior a 0,400 a 340 nm (cubeta de 1 cm).

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Añadir el contenido de un frasco del Reactivo B a un frasco del Reactivo A. Mezclar suavemente. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 4 mL de Reactivo A + 1 mL de Reactivo B.

Estable 15 días a 2-8°C. El reactivo de trabajo debe estar protegido de la luz.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1 cm de paso de luz.

MUESTRAS

Suero recogido mediante procedimientos estándar.

La concentración de CK total en la muestra debe ser inferior o igual a 1000 U/L. Si es superior, diluir el suero 1/2 con NaCl 150 mmol/L.

La CK-MB en suero es estable al menos 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Precalentar el Reactivo de Trabajo y el instrumento a 37°C.
- Pipetear en un tubo de ensayo: (Nota 1)

| | |
|---------------------|--------|
| Muestra | 40 μL |
| Reactivo de Trabajo | 1,0 mL |

- Mezclar bien e incubar inmediatamente a 37°C. Poner en marcha el cronómetro.
- Leer la absorbancia (A) a 340 nm exactamente a los 5 minutos (A₅) y a los 10 minutos (A₁₀) de incubación.

CÁLCULOS

La concentración de CK-MB en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$(A_{10} - A_5) \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s \times 5 \text{ min}} \times 2 = \text{U/L}$$

El coeficiente de absorción molar (ε) del NADPH a 340 nm es 6.300, el paso de luz (l) es 1 cm, el volumen total de reacción (V_t) es 1,04, el volumen de muestra (V_s) es 0,04, y 1 U/L equivale a 16,67 nkat/L. Se deducen los siguientes factores para calcular la concentración catalítica:

| | |
|----------------------------------|--|
| A ₁₀ - A ₅ | $\times 1651 = \text{U/L}$ $\times 27522 = \text{nkatal/L}$ |
|----------------------------------|--|

El índice de CK-MB se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{CK}_{\text{MB}} \text{ concentración}}{\text{CK}_{\text{total}} \text{ concentración}} \times 100 = \%$$

VALORES DE REFERENCIA

Se han descrito valores discriminantes de alrededor de 25 U/L = 417 nkat/L para el infarto agudo de miocardio. No obstante, es preferible emplear el límite del índice de CK-MB del 6% de la concentración de CK total⁴ como valor discriminante.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso del Suero Control de CK-MB (cod. 18024) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida. Reconstituir el suero con 0,5 mL de agua destilada. Agitar suavemente el vial, procurando evitar la formación de espuma, hasta disolver por completo todo el liofilizado. Utilizar el Control en el procedimiento analítico de forma idéntica a los sueros de los pacientes (Nota 2).

Estable 7 días a 2-8°C.

Las concentraciones de CK y CK-MB vienen indicadas en la etiqueta del vial. El valor de CK es trazable al sistema de referencia descrito por el Comité de Sistemas de Referencia para Enzimas de IFCC y el de CK-MB al material de referencia ERM-AD455 (IRMM). La trazabilidad solo se asegura empleando los reactivos y procedimientos de medida recomendados por BioSystems.

Los intervalos de valores aceptables que se sugieren han sido elaborados en base a la experiencia previa en variabilidad interlaboratorio y se indican únicamente a título orientativo, ya que cada laboratorio debe establecer sus propios parámetros de precisión.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

– Límite de detección: 3 U/L = 50 nkat/L

– Límite de linealidad: 600 U/L = 10002 nkat/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/2 con agua destilada y repetir la medición.

– Repetibilidad (intraserie):

| Concentración media | CV | n |
|-----------------------|-------|----|
| 45 U/L = 750 nkat/L | 2,8 % | 20 |
| 129 U/L = 2150 nkat/L | 2,3 % | 20 |

– Reproducibilidad (interserie):

| Concentración media | CV | n |
|-----------------------|-------|----|
| 45 U/L = 750 nkat/L | 3,5 % | 25 |
| 129 U/L = 2150 nkat/L | 3,2 % | 25 |

– Sensibilidad: 0,606 ΔmA·L/U·min = 10,10 ΔmA·L/nkat·min

– Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

– Interferencias: La hemólisis (hemoglobina > 2,5 g/L) y la lipemia (triglicéridos >1,25 g/L) interfieren. La presencia en la muestra de concentraciones por encima de lo normal de CK-BB o de adenilado quinasa, y de macro-CK o CK mitocondrial interfieren⁵. La bilirrubina (< 20 mg/dL) no interfiere. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁶.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La creatina kinasa esta compuesta de 2 cadenas polipeptídicas, denominadas B (de cerebro) y M (de músculo), que dan origen a los tres isoenzimas diméricos: MM (CK-1), MB (CK-2) y BB (CK-3).

Los porcentajes de la actividad de CK-MB sérica respecto a la actividad CK total suele ser inferior al 6%. Sin embargo, estos valores aumentan al 10 a 30% después de un infarto de miocardio dependiendo de la extensión de tejido miocárdico afectado y de la localización del infarto. No obstante, pueden encontrarse índices bajos de CK-MB sérica tras un infarto de un miocardio previamente sano. Por consiguiente, el diagnóstico de infarto de miocardio debe basarse en la historia clínica y otros datos, junto con la magnitud de la elevación de CK-MB y su perfil en el tiempo^{4,7}.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

- Estos reactivos pueden utilizarse en algunos analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.
- Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

BIBLIOGRAFÍA

- Würzburg U, Hennrich N, Lang H, Prellwitz W, Neumeier D and Knedel M. Bestimmung der aktivität von creatinkinase MB im serum unter verwendung inhibierender antikörper. *Klinische Wochenschrift* 1976; 54: 357-360.
- Gerhardt W and Waldenstrom G. Creatine kinase B-subunit activity in serum after immunoinhibition of M-subunit activity. *Clin Chem* 1979; 25: 1274-1279.
- IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase. *JIFCC* 1989; 1: 130-139.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Urdal P and Landaas S. Macro creatine kinase BB in serum, and some data on its prevalence. *Clin Chem* 1979; 25: 461-465.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.