

Reactivo de Isoenzima CK-MB



RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	7 días a 2-8 °C
Rango de determinación	:	Hasta 1000 U/L
Tipo de muestra	:	Suero
Método	:	Cinético
Preparación del reactivo	:	Añadir un volumen especificado de tampón.

IVD

USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro de CK-MB (CK-2) en el suero humano.

RELEVANCIA CLÍNICA^{1,2}

La creatina quinasa (ATP:creatina N-fosfotransferasa, EC2.7.3.2) es una enzima dimérica compuesta por dos tipos de subunidades monoméricas, M (Muscular) y B (Cerebral). Las subunidades se combinan para formar tres isoenzimas CK distintas, CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2) y CK-MM (CK-3). CK-MM es la forma predominante de CK en los músculos esqueléticos. CK-BB se encuentra en el cerebro y en los músculos esqueléticos. CK-MB se encuentra en alta concentración en el miocardio (entre 14 y 42%) y en menor proporción en los músculos esqueléticos. En ausencia de enfermedad, la mayor parte de la actividad de la CK en el suero se debe a la isoforma CK-MM.

Los daños en el miocardio, como los presentes en el infarto de miocardio agudo (IMA), tendrán como resultado un aumento de los niveles circulatorios de la isoforma CK-MB. Generalmente los niveles de CK-MB aumentan entre 4 y 6 horas después de la aparición del dolor de pecho, alcanzando un pico entre las 12 y 24 horas y volviendo a los niveles iniciales antes de 48 horas. En los casos en los que existan sospechas de un IMA; se recomienda la determinación de CK-MB, generalmente en el momento del ingreso y 6 horas, 12 horas y 24 horas más tarde.

METODOLOGÍA

Se encuentran disponibles varios métodos para la separación y cuantificación de CK-MB mediante electroforesis e inmunoinhibición. Los métodos de inmunoinhibición presentan la ventaja de que se pueden automatizar fácilmente. El método CK-MB de Thermo Scientific utiliza un método de inmunoinhibición. El reactivo contiene una mezcla de anticuerpos monoclonales al monómero CK-M y así inhibe por completo la actividad de CK-MM y la mitad de la actividad de CK-MB. Se mide la actividad de la subunidad monomérica B no inhibida de CK-MB, la cual representa la mitad de la actividad de CK-MB. El método asume que la actividad de la isoenzima CK-BB en suero es prácticamente cero. En este método, se añade suero a un reactivo de CK-NAC modificado que contiene el anticuerpo anti-M. Durante la incubación inicial tienen lugar las siguientes reacciones:

- CK-MM + anticuerpo \longrightarrow CK-MM inhibida
CK-MB + anticuerpo \longrightarrow CK-MB inhibida al 50%
- CK-B inactivada \longrightarrow NAC \longrightarrow Activiertes CK-B

La actividad de CK-B se determina utilizando la siguiente secuencia de reacciones:

- Fosfato de creatina + Mg-ADP $\xrightarrow{CK-B}$ Creatina + ATP
- ATP + Glucosa \xrightarrow{HK} Glucosa-6-fosfato + ATP
- G6P + NADPH⁺ $\xrightarrow{G6PDH}$ 6-GP + NADPH

La adenilato quinasa (mioquinasa) se inhibe mediante el AMP y el P¹P⁵-diAP

- 2ADP + NADPH⁺ $\xrightarrow{AK} //$ AMP + ATP

Abreviaturas:

ADP	= 5'-difosfato de adenosina
ATP	= 5'-trifosfato de adenosina
HK	= Hexoquinasa
G-6-P	= Glucosa-6-fosfato
NADP ⁺	= Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
G-6-PDH	= Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
6-PG	= 6-fosfogluconato
NADPH	= NADP reducido
AMP	= 5'-monofosfato de adenosina
AK	= Adenilato quinasa
P ¹ P ⁵ -diAP	= P ¹ P ⁵ -Di(adenosina-5'-) pentafofato

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos **Concentración**
Mezcla de anticuerpos monoclonales anti CK humanos suficiente para inhibir hasta 2000 U/L de CK-M a 37 °C.

Acetato de imidazola	100 mmol/L
AMP	5 mmol/L
NADP	2 mmol/L
P ¹ P ⁵ -diAP	10 mmol/L
EDTA	2 mmol/L
Acetato de Mg	10 mmol/L
ADP	2 mmol/L
D-Glucosa	20 mmol/L
NAC	20 mmol/L

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado		Limitación de temperatura
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
LOT	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
REF	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso	REAG A	Reactivo A
REAG B	Reactivo B		

Fosfato de creatina	30 mmol/L
Hexoquinasa (levadura)	>3000 U/L
G-6-PDH (leuconostoc)	>2000 U/L
También contiene estabilizantes y cargas no reactivos.	
pH 7,00 ± 0,2 a 20 °C	

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo de Isoenzima CK-MB. El envase de este producto contiene caucho natural seco. Tenga precaución al manipular los viales con boca para cápsulas metálicas y los viales de vidrio rotos, dado que los bordes afilados podrían herir al usuario.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituya el Reactivo A con el volumen de tapón, Reactivo B, indicado en la etiqueta del vial. Mezcle suavemente hasta que se disuelva.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

Cuando se almacena refrigerado a 2-8 °C, el reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella y de la caja del kit.

Reactivo reconstituido:

Cuando se almacena bien cerrado a 2-8 °C, el reactivo es estable durante al menos 7 días.

Indicaciones del deterioro del reactivo:

- Turbidez,
- Absorbancia >0,7 a 340 nm (1cm); y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS^{3,4}

Recogida: En el caso de que existan sospechas de un IMA; se recomienda la determinación de CK-MB en el momento del ingreso y tras 6 horas, 12 horas y 24 horas. En número mínimo absoluto de muestras es 2, obtenidas 12 y 24 horas después de la aparición de los síntomas.

Suero: Use suero no hemolizado.

Plasma: No recomendado. El heparina, el EDTA, el fluoruro y el citrato inhiben la actividad de la CK.

Almacenamiento: La CK es estable durante 1 día a 4 °C. No obstante, la estabilidad puede variar algo para el suero individual, dependiendo de la distribución isoenzimática y el estado ácido-base del paciente. Para un almacenamiento de mayor duración, consérvese congelado a -20 °C.

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- se requieren, pipetas para administrar volúmenes medidos con precisión.
- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37 °C) y de medir la absorbancia a 340 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas para muestras.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones de instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	30 °/37 °C
Longitud de onda	340 nm (334, 365 nm)
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Incremento
Muestra: Relación de reactivo	1 : 20
p.ej. Vol de muestra:	10 µL
Vol. de reactivo	200 µL
Retraso/retardo	300 segundos
Tiempo de lectura	300 segundos
Límites del blanco de reactivo (340 nm, paso de luz de 1cm)	Bajo 0,0 UA Alto 0,7 UA
Linealidad (consulte la sección de Linealidad)	Hasta 1000 U/L
Sensibilidad Analítica (340 nm, paso de luz de 1cm)	0,15 Δm/min por U/L

CÁLCULOS

En general, el instrumento calcula los resultados de forma automática, como sigue:

Actividad en U/L = ΔAbs/min x Factor

$$\text{Factor} = \frac{TV \times 1000}{6,3 \times SV \times P} \times 2$$

En la cual: TV = Volumen total de reacción en mL
 SV = Volumen de la muestra en mL
 6,3 = coeficiente de absorción milimolar del NADH a 340 nm (Véase la nota 4)
 P = Longitud del paso de la cubeta en cm.
 2 = multiplicar el valor de CK-B por 2 se obtiene una estimación de la actividad de CK-MB.

Porcentaje de CK-MB:

$$\% \text{ actividad de CK-MB} = \frac{\text{U/L de CK-MB}}{\text{U/L de CK total}} \times 100$$

Ejemplo: CK Total = 350 U/L
 CK-MB = 53 U/L

$$\% \text{ actividad de CK-MB} = \frac{53 \text{ U/L}}{350 \text{ U/L}} \times 100$$

$$\% \text{ actividad de CK-MB} = 15\%$$

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para adaptarse a los diferentes requerimientos del espectrofotómetro.
- La CK total se debe determinar primero utilizando el reactivo de CK de vial único IFCC o el reactivo de CK de 2 viales FCC de Thermo Scientific. Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,55 AU/min, repita el ensayo con suero diluido. No obstante, resulta crítica la fracción volumétrica del suero en el sistema de reacción de CK. Los cambios de la fracción volumétrica, como los que ocurrirán durante la dilución previa de la muestra, no provocan cambios en la velocidad de reacción. Si es necesaria la dilución, se recomiendan 150 mmol/L de NaCl. Con una dilución de 1:2, se puede esperar un aumento aparente del nivel de CK como máximo del 10%.^{5,6} Alternativamente, para la dilución se puede utilizar una mezcla de suero libre de CK. El suero libre del CK se puede producir calentando suero a 56°C durante dos horas.
- Los resultados válidos dependen de un instrumento calibrado con precisión, de la distribución, y del control de la temperatura.
- El coeficiente de absorción milimolar para el NADH a 334 nm = 6,18 y a 365 nm = 3,40.
- Conversión de unidades: U/L x 16,67 x 10⁻³ = µkat/L

CALIBRACIÓN

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, bilirrubina y lipemia en un sistema químico clínico automatizado. Se obtuvieron los siguientes resultados:
Hemoglobina: Se deben evitar las muestras hemolizadas con el fin de minimizar la interferencia producida por la adenilato quinasa y por otros intermedios de reacción tales como el ATP y G-6-P.
Bilirrubina: No se observa interferencia debida a bilirrubina hasta 340 µmol/L (20 mg/dL).
Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como triglicéridos, hasta 2,4 mmol/L (210 mg/dL).
- CK-BB, en el caso de estar presente en el suero, constituye un factor interferente potencial en este sistema de ensayo. Varios estudios han mostrado que CK-BB sólo aparece en el suero en raras ocasiones.⁸
- Se ha descubierto que las isoenzimas atípicas de la CK también interfieren con este sistema de ensayo. Una forma, complejo de CK-BB y inmunoglobulina G (Macro CK tipo 1) se encuentra con mayor frecuencia en ancianas. La presencia de las CK atípicas falsea en el valor del sistema de ensayo, dado que el patrón enzimático muestra un estado estacionario con el tiempo. En los casos en los que se sospeche la presencia de un IMA, los valores de CK-MB aumentarán y volverán a los niveles normales en 48 horas.⁶
- Young DS ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.⁹

VALORES ESPERADOS^{10,11}

CK Total	A 37°C	Hombres	<200 U/L	Mujeres	<180 U/L
	A 30°C	Hombres	<130 U/L	Mujeres	<113 U/L

CK-MB	A 37°C	<25 U/L
	A 30°C	<16 U/L

% CK-MB Una proporción de CK-MB entre 6 y 25% es coherente con un Infarto de Miocardio Agudo (véase la Limitación 3).

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo de CK-MB en un analizador químico clínico automatizado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T¹².

Intra análisis	NIVEL I	NIVEL II :
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	37	156
DD (U/L)	1,7	2,5
CV (%)	4,6	1,6

Entre días	NIVEL I	NIVEL II :
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	37	156
DD (U/L)	1,3	3,3
CV (%)	3,4	2,1

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando un reactivo disponible comercialmente similar como referencia. Se ensayaron las muestras de suero en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de mínimos cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	66
Intervalo de los resultados de las muestras	4 - 227 U/L
Media de los resultados	45 U/L
Media de los resultados del CK-MB	44 U/L
Pendiente	0,96
Ordenada en el origen	1,5 U/L
Coefficiente de correlación	0,999

RANGO DE DETERMINACIÓN

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 1000 U/L.

ESPECIFICIDAD

Los estudios de inhibición llevados a cabo indican que el Reactivo de isoenzima CK-MB inhibió de forma eficaz más del 99% de toda la actividad de CK-MM en una muestra con 2000 U/L de CK-MM.


SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,15 ΔmA/min por U/L.

BIBLIOGRAFÍA

- Bremner FW. Cardiac disease and hypertension in "Clinical chemistry theory, analysis and correlation." Kaplan L and Pesce A (Ed) CV Mosby company, 1987.
- Chapman JF, Woodard LL and Silverman LM. Creatine kinase isoenzymes in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation." Kaplan L and Pesce A (Ed) CV Mosby company, 1987.
- Bremer WF. Cardiac Disease and Hypertension in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation." Kaplan L and Pesce A (Ed) CV Mosby company, 1987.
- Hørdér M., Elser R.C., Gerhardt W., et al. Journal of the IFCC 1989; 1:130-8.
- Strömme JH et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1976; 36:711-23.
- Stein W. CK-MB methods and clinical significance. Proceedings of the CK-MB symposium, Philadelphia, 1981; 61-74.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 805.
- Mattenheimer H. CK-MB methods and clinical significance. Proceedings of the CK-MB symposium, Philadelphia, 1981; 51-59.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Third edition, 1990; 3: 120-22.
- Bais R, et al. Pathology 1988; 20:367-72.
- Henderson AR et al. Clin Chem. 1992; 38/7:1365-1370.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
 a division of Fisher Scientific Company, LLC
 a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
 Middletown, VA 22645-1905 USA
 Phone: 800-528-0494
 540-869-3200
 Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK

840350 (R1)

REF

Información de Pedidos

No de Catalogue

REAG A

REAG B

TR14314	20 x 5 mL	1 x 100 mL
TL14301 (ILab 600)	20 x 20 mL	1 x 400 mL