CK-MB FS*

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* CK–MB en suero en equipos fotométricos

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase						
1 1651 99 10 021	R1	5 x	20 mL	+	R2	1 x	25 mL
1 1651 99 10 026	R1	5 x	80 mL	+	R2	1 x	100 mL
1 1651 99 10 930	R1	4 x	20 mL	+	R2	2 x	10 mL
1 1651 99 10 191	R1	4 x	36 mL	+	R2	4 x	9 mL
1 1651 99 90 305	R1	10 x	12 mL	+	R2	2 x	20 mL

Para la determinación con CK-MB DS se necesita también el reactivo:
1 1690 99 10 065 3 x 3 mL

Resumen [1,2]

La creatin–quinasa (CK) es una enzima formada por isoenzimas principalmente del músculo (CK-M) y el cerebro (CK-B). La CK existe en el suero en forma dimérica como CK-MM, CK-MB, CK-BB y como macroenzima. La medición de CK–MB es un test específico para la detección de daño en el músculo cardiaco y, por lo tanto, se usa para el diagnóstico y vigilancia del infarto de miocardio.

Método

Test UV optimizado según la DGKC (Sociedad Alemana de Química Clínica) y la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio), para CK con inhibición de isoenzimas CK–M por anticuerpos policlonales.

Principio

La CK–MB consiste de las subunidades CK–M y CK–B. Los anticuerpos específicos contra el CK–M inhiben toda actividad de CK–MM (parte principal de la actividad total de CK) y la subunidad CK–M de la CK–MB. Sólo la actividad del CK–B es medida, la cual es la mitad de la actividad del CK–MB.

Principio de la reacción

Fosfato de creatina + ADP <—CK—> creatina + ATP

Glucosa + ATP <—HK—> glucosa-6-fosfato + ADP

Glucosa-6-fosfato + $NADP^+$ <—G6P-DH—>
6-fosfogluconolactona + NADPH + H^+

CK-MB DS

Durante la medición de CK-MB en concentraciones bajas sólo se alcanzan señales débiles. Para mejorar la precisión y la sensibilidad se puede añadir el reactivo adicional CK-MB DS, que dobla la señal de medición a través del siguiente paso de reacción adicional:

6-fosfogluconolactona —PGL—> 6-fosfogluconato

6-fosfogluconato + $NADP^+$ —6-PGDH—>
Ribulosa-5-fosfato + CO_2 + NADPH + H^+

Nota: Si se utiliza CK-MB DS, hay que determinar los valores con un calibrador. No utilizar un factor teórico.

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1	Solución tampón Imidazol/MES	pH 6.5	60 mmol/L
	Glucosa		25 mmol/L
	N-Acetilcisteina (NAC)		25 mmol/L
	Acetato de magnesio		12,5 mmol/L
	EDTA-Na_2		2 mmol/L
	NADP		2,5 mmol/L
	Hexokinasa (HK)		≥ 5 kU/L
	Anticuerpos policlonales (cabra) contra CK–M humano; capacidad inhibitoria		≥ 2500 U/L
R2	Solución tampon Imidazol		160 mmol/L
	ADP		10 mmol/L
	AMP		28 mmol/L
	Glucosa-6-fosfato dehidrogenasa (G6P-DH)		≥ 15 kU/L
	Diadenosina pentafosfato		50 µmol/L
	Fosfato de creatina		150 mmol/L
	Stabilizers		

Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado de expiración, si se almacena entre 2 y 8 °C, protegidos de la luz y si se evita la contaminación. ¡No congelar los reactivos!

Advertencias y Precauciones

1. Los reactivos contienen ácido morfolinoetanosulfonico e imidazol respectivamente. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos.
2. Los reactivos contienen azida de sodio (0,95 g/L) como preservo. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas.
3. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para el uso de reactivos de laboratorio.

Manipulación de Desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Inicio con sustrato

Los reactivos están listos para usar.
Para la determinación con CK-MB DS:
Mezclar 1 parte de CK-MB DS con 20 partes de reactivo 1.
Emplear la mezcla tal como se describe para el reactivo R1.

Estabilidad en R1 premezclado:

6 días	de	2 a 8 °C
24 horas	de	15 a 25 °C

Inicio con muestra

(Sin CK-MB DS)
Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2
(p. ej. 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreactivo

Estabilidad:	2 semanas entre	2 y 8 °C
	24 horas entre	15 y 25 °C

¡El monoreactivo debe protegerse de la luz!

Materiales requeridos pero no suministrados

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo General de laboratorio

Tipo de muestra

Suero y plasma
Estabilidad [8]:

2 días	de	20 a 25 °C
7 días	de	4 a 8 °C
4 semanas	a	- 20 °C

Desechar las muestras contaminadas!

Procedimento del Ensayo

Las aplicaciones para sistemas automatizados están disponibles bajo pedido.

Longitud de onda	340 nm, Hg 334 nm
Paso Óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Medición	Contra blanco de reactivo

Inicio con sustrato

	Blanco	Muestra/ Calibrador
Muestra/Calibrador	-	50 µL
Agua destilada	50 µL	-
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL
Mezclar, incubar durante aprox. 3 min., luego añadir:		
Reactivo 2	250 µL	250 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 2 min. y empezar a cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2, 3, 4 y 5 min.		

ΔA/min = ΔA/min Muestra/Calibrador

*Fluid stable = liquido estable

Inicio con Muestra

	Blanco	Muestra / Calibrador
Muestra / Calibrador		40 µL
Agua destilada	40 µL	
Monoreactivo	1000 µL	1000 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 5 min. y cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2, 3,4 y 5 min.		

ΔA/min = ΔA/min Muestra/Calibrador

Cálculo

Con factor

A partir de las lecturas de absorbancia, calcular Δ A/min. y multiplicar por el correspondiente factor de la tabla siguiente:

ΔA / min. x factor = actividad CK–MB [U / L]

	sin CK-MB DS
340 nm	8254
334 nm	8414

Nota: Si se utiliza CK-MB DS, hay que determinar los valores con un calibrador. No utilizar un factor teórico.

Con calibrador

$$CK-MB\ [U/L] = \frac{\Delta E/min\ \ muestra}{\Delta E/min\ \ calibrador} \times\ Conc.\ Calibrador\ [U/L]$$

Calibradores y Controles

Para la calibración de los sistemas fotométricos automatizados se recomienda el calibrador DiaSys TruCal U. Para control de calidad interno deben ser ensayados controles DiaSys TruLab N y P con cada lote de muestras.

	Cat. No.	Presentación
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características Técnicas

Rango de Medida

En muestras con actividades totales CK hasta 2000 U/L los componentes CK–M son completamente inhibidos por los anticuerpos presentes. Si ese valor es excedido, las muestras deben ser diluidas con solución de NaCl (9 g/L) hasta actividades de menos de 2000 U/L.

Especificidad / Interferencias

No se observó ninguna interferencia con el ácido ascorbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL y lipemia hasta 600 mg/dL de triglicéridos. La hemoglobina interfiere incluso a concentraciones mínimas.

Sensibilidad / Límite de Detección

El límite más bajo de detección es 2 U/L.

Precisión

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	37,1	1,03	2,77
Muestra 2	212	1,71	0,80
Muestra 3	108	3,09	2,84

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	37,6	1,21	3,2
Muestra 2	201	2,24	1,1
Muestra 3	52,1	1,51	2,9

Método de Comparación

Al comparar el reactivo CK-MB FS con otro método que emplea anticuerpos monoclonales para la inhibición de CK-M, el reactivo CK-MB FS de Diasys mostró valores incrementados para algunos pacientes. Dado que los valores fueron algo superiores, no hubo riesgo de obtención de resultados falsamente negativos. En cualquier caso, los resultados de CK-MB deben ser considerados junto con el resto de análisis diagnósticos y pruebas clínicas.

La comparación entre CK-MB FS de DiaSys (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 84 muestras dio los siguientes resultados: y = 0,96 x + 1,99 U/L; r = 0,941.

Rango de Referencia

Infarto de miocardio: Existe una alta probabilidad de daños miocárdicos cuando se cumplen las siguientes tres condiciones [6]:

1. CK (hombres) > 190 U/L (3,12 µkat/L)*
2. CK (mujeres) > 167 U/L (2,87 µkat/L)*
3. CK-MB > 24 U/L (0,40 µkat/L)*

La actividad CK-MB se encuentra entre el 6% y el 25% de la actividad total CK.

* calculada con un factor de cálculo de temperatura 2,38 (de 25 °C a 37 °C)

Si se sospecha de un infarto de miocardio y aún así los valores medidos se encuentran por debajo de los límites, puede que se trate de un infarto reciente. En ese caso, deben repetirse las determinaciones en muestras recientes 4 horas después.

En una población sana los valores de CK varían en función de la edad y de la raza [6,7].

Cada laboratorio debería comprobar la idoneidad de los valores de referencia para sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios rangos de referencia. Para establecer un diagnóstico se deben valorar los resultados de CK junto con el historial médico, los análisis clínicos y los resultados de otras pruebas clínicas.

Literatura

1. Stein W. Creatine kinase (total activity), creatine kinase isoenzymes and variants. In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft;1998.p.71-80.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Würzburg U, Hennrich N, Orth HD, Lang H. Quantitative determination of creatine kinase isoenzyme catalytic concentrations in serum using immunological methods. J Clin Chem Clin Biochem 1977;15:131-7.
4. Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. Standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids: Standard method for the determination of creatine kinase activity. J Clin Chem Clin Biochem 1977;15:255-60.
5. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. Clin Chem Lab Med 2002;40:635-42.
6. Stein W. Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985:36:572-7.
7. Myocardial infarction redefined – a consensus document of the Joint European society of Cardiology / America College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial Infarction. Eur Heart J 2000;21:1502-13.
8. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 24-5.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania