

Creatina quinasa - MB

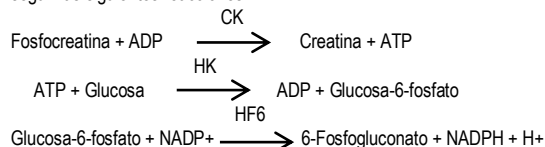
Inmunoinhibición. Cinético UV

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CREATINA QUINASA-MB (CK-MB) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El anticuerpo anti CK-M inhibe completamente la actividad de la CK-MM y la subunidad (M) de la CK-MB. La actividad de la CK-B no inhibida se determina según las siguientes reacciones:



La velocidad de formación de NADPH, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de CK-B en la muestra ensayada ^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La CK-MB es una enzima compuesta de dos subunidades, la subunidad M expresada en el músculo y la subunidad B, expresada en las células nerviosas. La CK-MB se encuentra en el suero en concentraciones bajas, se incrementa como consecuencia de un infarto de miocardio y después desciende a niveles normales. Puede incrementarse, más raramente, en traumatismos del músculo esquelético^{5,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Imidazol pH 6,7	100 mmol/L
Tampón	Glucosa	20 mmol/L
	Acetato de magnesio	10 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
R 2	*Anti CK-M	2000 U/L
Anti CK-M	ADP	2 mmol/L
	AMP	5 mmol/L
	di-Adenosina-5- pentafosfato	10 mmol/L
	NADP+	2 mmol/L
	Hexoquinasa (HK)	2500 U/L
	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH)	1500 U/L
	N-acetilcisteína	20 mmol/L
	Fosfato de creatina	30 mmol/L

*Anti CK-M suficiente para inhibir hasta 2000 U/L de CK – MM

OPCIONAL

CK-Nac / CK-MB CONTROL	Suero humano liofilizado
------------------------	--------------------------

PRECAUCIONES

R1: H360-Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

- Reactivo de trabajo (RT)

Disolver (→) un comprimido (Tablet) de R2 en 2.5 ml de R1.

Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 8 días a 2-8°C o 24 horas a 15-25°C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.

- Absorbancias (A) del Blanco a 340nm $\geq 1,6$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340nm.

- Baño termostable a 25°C, 30°C ó 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)

- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.

- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma¹. Estabilidad: 7 días a 2-8°C, protegida de la luz.

La actividad de la CK-MB en el suero disminuye un 10% tras 24 horas a 4°C o tras 1 hora a 25°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura constante: 25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

3. Pipetear en una cubeta:

RT (ml)	1,0
Muestra (µl)	40

4. Mezclar. Incubar 10 minutos.

5. Leer la absorbancia (A₁) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia de nuevo a los 5 minutos (A₂).

6. Calcular la diferencia de absorbancias: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CÁLCULOS

$\Delta A \times 825 = \text{U/L de CK-B}$

$\Delta A \times 1651 = \text{U/L de CK-MB}$

El factor de cálculo en analizadores automáticos por método cinético ($\Delta A/\text{min}$) es 8255 de CK-MB.

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Porcentaje de actividad de la CK-MB:

Actividad de la CK MB

$\times 100 = \%$ de actividad de la CK-MB

Actividad de la CK Total

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,53	2,38
30°C	0,65	1,00	1,56
37°C	0,42	0,64	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente utilizar controles de sueros específicos CK-Nac/CK-MB

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

La probabilidad de un infarto de miocardio es elevada en las siguientes condiciones:

	25°C	30°C	37°C
CK-MB	> 10 U/L	> 15 U/L	> 24 U/L

La actividad de la CK-MB se encuentra entre 6 y 25% de la actividad total de la CK. Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Límite de detección: 3,11 U/L.

Linealidad: Antes de efectuar la determinación de CK-MB, se determinará la actividad de CK Total mediante el método CK-NAC activado. Si la actividad de CK es superior a 1000 U/L, las muestras, para la determinación de CK-MB, deberán diluirse a 1:2 con NaCl al 0.9 % y multiplicar el resultado calculado por 2.

Precisión:

	Intraserie (n = 20)	Interserie (n = 20)
Media (U/L)	54,2	138,3
SD	1,45	1,33
CV (%)	2,67	0,96

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00029 $\Delta A / \text{min}$.

Exactitud: Los reactivos **REACTIVA SEARCH** (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,996.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,9919x - 0,1042$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Las muestras extremadamente hemolizadas interfieren en el ensayo². Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la CK-MB^{3,4}.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-116.
- Gerhardt W. et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

PRESENTACIÓN:

CONT. 19x2,5 ml CODIGO: RS29060