

CK - MB (INMUNOINHIBICIÓN)

Reactivo líquido para la determinación de la actividad de la isoenzima MB de la Creatín Quinasa(activada por N-acetil Cisteína) en suero o plasma.

Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

SIGNIFICANCIA CLINICA

La enzima Creatin Quinasa (CK) es un dímero conformado por la combinación de las subunidades inmunológicamente diferentes, M y B. Existe como las isoenzimas MM, MB y BB. Las CK-MM y CK-MB se distribuyen básicamente en el músculo esquelético y cardíaco, en tanto la isoforma CK-BB está presente principalmente en el tejido cerebral y en tejidos compuestos por músculo liso. Ante un infarto al miocardio, la CK-MB aumenta considerablemente, y constituye un marcador altamente específico para el diagnóstico del infarto.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El método VALTEK® se basa en la medición de la actividad de la CK en presencia de un anticuerpo dirigido contra el monómero M. Este anticuerpo inhibe totalmente la isoenzima CK-MM, y la mitad de la actividad de la forma CK-MB, sin afectar la actividad del monómero B de las isoenzimas MB y BB. Dado que la isoenzima CK-BB no se encuentra normalmente en la sangre, la determinación de la actividad del monómero B es prácticamente específica para la forma MB.

REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición del Reactivo 1:

| | |
|---|--------------------|
| Buffer Imidazol pH 6,6 | 0,10 mol/L |
| Mg2+ | 10 m M |
| EDTA | 2 m M |
| N-Acetil Cisteina | 20mM |
| Anticuerpo anti CK-M humana en cantidad suficiente para inhibir hasta | 1500 UI/l de CK-MM |
| G-6-PDH | >3.000 U/L |
| HK | >3.000 U/L |
| Estabilizantes y preservantes | c.s. |

Composición del Reactivo 2:

| | |
|--------------------------------|-------|
| Buffer Tricine pH 7,5 | 40mM |
| Adenosina-5'-monofosfato (AMP) | 5 mM |
| Creatina fosfato | 30 mM |
| Adenosina-5'-difosfato (ADP) | 2 mM |
| NADP+ | 2 mM |
| D-Glucosa | 20 mM |
| Estabilizantes y preservantes | c.s. |

Preparación del Reactivo de Trabajo: Mezclar 1 mL. de Reactivo 1 con 200 ul. de Reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción. Protéjase este reactivo de la luz directa.

Estabilidad del reactivo de trabajo: 10 días entre 2° y 8°C., Descartar el reactivo si su absorbancia contra blanco de agua es mayor de 0,7 O.D. a 340 nm.

MUESTRA

Utilizar suero fresco libre de hemólisis o plasma heparinizado. La CK es estable por 24 horas a temperatura ambiente y 14 días entre 2° y 8°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 340 nm, baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

TECNICA

Llevar el reactivo a la temperatura de reacción (30° ó 37°C) y poner el espectrofotómetro en cero contra blanco de agua destilada.

| | | |
|---|------|------|
| Reactivo trabajo | (mL) | 1.00 |
| Muestra | (mL) | 0.05 |
| Mezclar y transferir a la cubeta del equipo. Incubar 2 minutos a la temperatura de medición (30° ó 37°C). Leer la absorbancia inicial, y repetir la lectura a intervalos de 60 segundos por los próximos 3 minutos. | | |

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

CALIBRACION

- En caso de calibración se recomienda utilizar un calibrador sérico específico para CK-MB.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
 - El lote de reactivo cambia
 - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
 - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CALCULOS

Determine el cambio de absorbancia por minuto (Δ Abs/min)

$$\text{Actividad CK (UI/l)} = \Delta \text{Abs/min} \times 8095$$

$$\text{FACTOR} = \frac{V_t \times 1000}{\sum_{p-NADPH\ 340} \times P \times V_m} = 8095$$

V_t = Volumen total de reacción

$\sum_{p-NADPH\ 340}$ = Coef. de extinción molar del NADPH a 340 nm

P = Espesor del paso de luz en la cubeta

V_m = Volumen de muestra

Si la actividad de CK-Total determinada con el kit VALTEK® CK-NAC fuese superior a 1500 UI/l, diluir la muestra 1:1 con suero fisiológico antes de efectuar el ensayo de CK-MB. El resultado obtenido en este caso, se multiplica por 2.

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para CK-MB por este método.
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- El factor podría variar en autoanalizadores por diferencia en el espesor de paso de luz. En este caso utilizar un calibrador sérico para obtener el factor.
- Si la actividad de CK-Total determinada con el kit VALTEK® CK-NAC fuese superior a 1500 UI/l, diluir la muestra 1:1 con suero fisiológico antes de efectuar el ensayo de CK-MB. El resultado obtenido en este caso, se multiplica por 2.
- Los volúmenes de reactivo y muestra pueden ser alterados proporcionalmente de acuerdo a los requerimientos del espectrofotómetro.
- A pesar de la ausencia de la isoenzima CK-BB en condiciones normales o en pacientes con infarto, se ha descrito en algunos casos una forma macro de la CK-BB que podría sobreestimar la medición del monómero B.
- Se sospecha la presencia de esta forma macro si el valor obtenido para la CK-MB es superior al 20% de la actividad CK total.
- Evitar el uso de sueros hemolizados ya que se pueden obtener resultados falsamente elevados.
- Los rangos normales deben informarse de acuerdo a la temperatura a la cual se realiza el ensayo.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Contiene Azida de Sodio 0.05% (Nº CAS 26628-22-8) No peligroso a esta concentración. No ingerir. En contacto con metales pesados, como tuberías de cobre o plomo, podría formar azida metal que es explosiva, elimine los residuos con grandes volúmenes de agua y/o de conformidad con las regulaciones locales
- En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

-Linealidad: hasta 400 U/L.

Para valores superiores a 400 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 5 U/L.

-Interferencias: Hemoglobina sobre 1,0gr/dL, bilirrubina sobre 20mg/dL y la lipemia (triglicéridos sobre 500 mg/dL) podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (6).

-Exactitud: Los reactivos VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

-Reproducibilidad interserie: n=10

| Nivel | Media (U/Lt) | C.V. |
|------------|--------------|--------|
| Patológico | 190 | 3,71 % |

Estos datos han sido obtenidos utilizando la técnica manual. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento

- Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

| | | |
|----------------------|--------|--------|
| Temperatura medición | 30°C | 37°C |
| CK-MB (UI/l) | 0 a 10 | 0 a 25 |

Sospecha de infarto al miocardio:

| | |
|---|---------------------------------------|
| CK-MB > 6% de la actividad CK-Total cuando: | |
| a 30°C | CK-MB > 10 UI/l y CK-Total > 160 UI/l |
| a 37°C | CK-MB > 25 UI/l y CK-Total > 420 UI/l |

PRESENTACIONES DISPONIBLES

| CODIGO | CONTENIDO |
|--------|----------------------|
| 300110 | Reactivo 1 1 x 40 mL |
| | Reactivo 2 1 x 8 mL |
| 200110 | Reactivo 1 1 x 40 mL |
| | Reactivo 2 1 x 8 mL |

BIBLIOGRAFIA

- 1.Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B.Saunders, Philadelphia, PA., 1976.
- 2.Szasz, G., Clin. Chem. 22 (650), 1976.
- 3.Moren, L.G., et al., Clin. Chem. 23(1569), 1977.
- 4.Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21(10), 1975.
- 5.Wu, A.H.B., Bowers, C.N., Clin. Chem. 28(2017), 1982.
6. Young D.S., Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press,1995.

REV Nº 2