

REF 10226-4 4 x 28 mL / 7 mL

REACTIVO DE CREATINA KINASA-MÚSCULO/CEREBRO (CKMB)

Cada cartucho contiene un volumen utilizable de 28 mL de reactivo R1 y 7 mL de reactivo R2.

USO PREVISTO

El reactivo CKMB EasyRA se utiliza para la determinación cuantitativa de la enzima creatina kinasa-MB (CKMB) en suero humano y plasma, mediante el "analizador químico clínico MEDICA EasyRA[®]" en laboratorios clínicos. Las mediciones de actividad de CK-MB se utilizan para el diagnóstico y el tratamiento del infarto al miocardio y enfermedades musculares, como la miodistrofia de Duchenne. Utilizar únicamente para diagnóstico *in-vitro*. Solo para uso profesional.

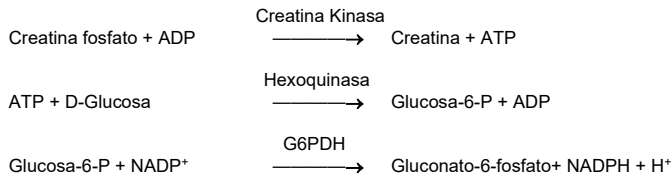
RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La creatina kinasa (CK) está formada por moléculas diméricas compuestas por subunidades de M (músculo) y B (cerebro) y existen como las isoenzimas MM, MB y BB.¹ Las subunidades M y B son diferentes desde el punto de vista inmunológico. La CK-MM y la CK-MB se distribuyen, principalmente, en los músculos esqueléticos y cardíacos, respectivamente, mientras que la CK-BB se encuentra, principalmente, en el cerebro y en los tejidos compuestos por músculo liso.² La determinación de la actividad de CK-MB en suero es un elemento importante en el diagnóstico de isquemia miocárdica, p. ej., en el infarto agudo al miocardio, la miocarditis, etc.^{3,4} La CK-MB se puede detectar en la sangre, aproximadamente, de 3 a 8 horas después de la aparición de los primeros síntomas cardíacos y se mantiene perceptible durante un periodo prolongado, según el curso de la afección.³

La alta concentración de CK-MB no es específica del infarto cardíaco (MI) y se puede detectar en estados de otras enfermedades. Los valores elevados de CK-MB se deben interpretar en relación con el cuadro clínico y la historia clínica.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

En este procedimiento, se mide la actividad de CK en presencia de un anticuerpo del monómero CK-M. Este anticuerpo inhibe las subunidades M de CK-MM y CK-MB y, de esta manera, permite la determinación de la subunidad B de CK-MB (si se supone la ausencia de CK-BB). La concentración catalítica de CK-B, que se corresponde con la mitad de la concentración de CK-MB, se determina a partir de la tasa de formación de NADPH, medida a 340 nm, mediante la serie de reacciones a continuación:



La actividad de CK-MB se calcula multiplicando por dos la actividad de CK-B.

REACTIVOS

Reactivo Buffer CK-MB (R1):

Buffer Imidazol (pH 6,3)	120 mmol/L
Glucosa	25 mmol/L
N-acetil-L-cisteína	25 mmol/L
Acetato de magnesio	12,5 mmol/L
NADP	2,5 mmol/L
EDTA	2,0 mmol/L
Hexoquinasa	≥ 5 kU/L
Azida sódica	<0,1%
Anticuerpos monoclonales (ratón) contra la CK-M humana, capacidad inhibidora	≥ 2500 U/L

Reactivo sustrato CK-MB (R2):

Buffer Imidazol (pH 9.0)	90 mmol/L
Creatina fosfato	150 mmol/L
ADP	10 mmol/L
AMP	28 mmol/L
Pentafosfato de diadenosina	50 μmol/L

Glucosa-6-PDH	≥ 15 kU/L
Azida sódica	<0.1%

PRECAUCIONES

- 1 Se deben respetar las normas de seguridad cuando se manipulen reactivos en el laboratorio. (CLSI GP17-A3).
- 2 Este material contiene azida sódica como conservante. Evite la ingesta y el contacto con la piel y las membranas mucosas. Si entra en contacto con la piel, enjuague el área afectada con abundante agua. Si entra en contacto con los ojos o lo ingiere, consulte con un médico inmediatamente. Consulte la hoja de datos de seguridad para obtener información sobre los riesgos, el peligro y la seguridad.
- 3 Como con cualquier procedimiento de prueba diagnóstica, los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta el resto de los resultados de la prueba y el estado clínico del paciente.
- 4 No utilice cubetas lavadas.

INSTRUCCIONES PARA LA MANIPULACIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y LA ESTABILIDAD DE REACTIVOS

El reactivo está listo para usarse en el estado en que se suministra. El reactivo que no fue abierto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacena a una temperatura entre 2 y 8°C. El reactivo es estable una vez cargado en el analizador químico clínico EasyRA durante el número de días programados en el chip RFID que se encuentra en el cartucho del reactivo. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos. Proteja de la luz.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO/ESTABILIDAD

Se debe utilizar suero o plasma claros y no hemolizados. Se puede utilizar plasma de sangre extraída con heparina de litio como anticoagulante. Centrifugue y retire el suero o plasma lo antes posible después de su extracción. La CK-MB en suero o plasma es estable durante 3 días a una temperatura entre 2 y 8°C.⁵

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

Compartimiento de reactivo CKMB (Medica CKMB Reagent Wedge), REF 10226-4

Materiales adicionales requeridos

Material de control disponible en el comercio

Cartucho de colorante de pruebas de precisión Medica, REF 10764

Medica Cleaner Wedge - Chemistry & ISE, REF 10660

Cartucho de limpieza Medica – Análisis bioquímico, REF 10661

Instrucciones de uso

El reactivo está listo para usarse en el estado en que se suministra. Retire la tapa del reactivo y colóquelo en la bandeja de reactivos del analizador químico clínico EasyRA ubicada en el área de los reactivos. La estabilidad del reactivo (30 días máximo) se encuentra programada en el chip RFID del cartucho de reactivos.

Nota: Verifique que no haya espuma en la parte interna del cuello del cartucho después de retirar las tapas y colocar el cartucho en el analizador. Si hay espuma, elimínela con una torunda o una pipeta desechable antes de realizar la prueba. Utilice distintas torundas o pipetas desechables para R1 y R2.

Calibración

No corresponde.

Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control del suero humano (normal y anormal) en el ensayo todos los días, cada vez que se le tomen muestras al paciente y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio también debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

Resultados

Al finalizar el ensayo, el analizador químico clínico Medica EasyRA calcula la concentración de CK-MB a partir de la variación de absorbancia por minuto, el volumen de la muestra, el volumen de reacción total, la longitud de trayectoria de 0,6 cm y la absorptividad molar de 6,22.

$$\text{CK-MB (U/L)} = \text{CK-B (U/L)} \times 2 = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volumen total } (\mu\text{l}) \times 1000) \times 2}{(\text{Absorptividad molar} \times \text{longitud de trayectoria (cm)} \times \text{volumen de la muestra } (\mu\text{l}))}$$

Una unidad por litro (U/L) de actividad de CK-B es la cantidad de enzima que oxida una $\mu\text{mol/L}$ de NADP por minuto.

Valores esperados⁶

El rango de referencia para la actividad de CK-MB en el analizador químico clínico EasyRA se encuentra por debajo de 24 U/L.^{7,8} Este rango fue validado por Medica de conformidad con la norma C28-A3c de CLSI. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores previstos, ya que existen diferencias entre los instrumentos, los laboratorios y las poblaciones locales.

Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)

Solo se deben utilizar muestras de suero o plasma no hemolizadas.

Si la variación de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{Min}$) es superior a 0,0327, lo cual corresponde a 100 U/L aproximadamente, el analizador marcará los resultados como "SD" (depleción de sustrato). Las variaciones de absorbancia por minuto superiores a este valor están por encima del rango lineal del análisis. Si el operador selecciona el icono "Re-run", se puede volver a probar la muestra usando un quinto (1/5) del volumen de muestra. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen inferior de muestra. Esto aumentará el rango reportable del análisis de CK-MB hasta 500 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTOS⁹

Rango reportable

El rango reportable es de 5 hasta 100 U/L. El rango extendido es de 5 hasta 500 U/L cuando se utiliza un quinto de la muestra (dilución 1:4).

Inexactitud / Correlación (CLSI, EP09-A2)

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del reactivo Medica para CK-MB (Y) en el analizador químico clínico EasyRA con un reactivo CK-MB (X) aprobado por la FDA en el analizador Stanbio Sirrus®*. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas de suero obtenidas en el analizador químico clínico EasyRA en comparación con el promedio de dos valores replicados obtenidos en un dispositivo aprobado por la FDA.

Número de muestras	41	Rango de muestras	6 hasta 100 U/L
Pendiente	0,9869	Intercepto con y	0,4702
Coefficiente de correlación	0,9961	Ecuación de regresión	$0,9869 * X + 0,4702$

* Sirrus es una marca registrada de Stانبio Laboratory LLP, ubicado en 1261 North Main St. Boerne, TX.

Los datos mostrados a continuación representan determinaciones individuales de plasma (heparina de litio) en comparación con el promedio de dos valores replicados de suero obtenidos en el analizador químico clínico EasyRA. Todos los parámetros de pruebas son idénticos.

Número de muestras	57	Rango de muestras	5 hasta 96 U/L
Pendiente	0,9797	Intercepto con y	1,4523
Coefficiente de correlación	0,9945	Ecuación de regresión	$0,9797 * X + 1,4523$

Imprecisión (CLSI, EP05-A2)

Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días. Tanto la precisión dentro de la corrida como la precisión total se determinaron a partir de estos datos.

Imprecisión intraanálisis:			Imprecisión total:		
Nivel contr. calid.	intraanálisis	intraanálisis	Nivel contr. calid.	Imprecisión total	Imprecisión total
U/L	SD	CV	U/L	SD	CV
	U/L	%		U/L	%
94	0,9	0,9	94	1,7	1,8
30	0,7	2,4	30	0,9	3,0
14	0,6	3,9	14	0,8	5,5

Linealidad (CLSI, EP06)

Lineal desde 5 a 100 U/L, con base en la regresión lineal $Y = 1,0009 * X - 0,2291$

Límite del blanco (LOB):	1,7 U/L	(CLSI, EP17-A)
Límite de detección (LOD):	2,9 U/L	(CLSI, EP17-A)
Límite de cuantificación (LOQ):	5,0 U/L	(CLSI, EP17-A)

Sustancias interferentes (CLSI, EP07)

Menos del 10 % de interferencia se clasificó como "interferencia no significativa". La hemoglobina interfiere, incluso en concentraciones mínimas. No use muestras hemolizadas. No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 25 mg/dL de bilirrubina.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 775 mg/dL de triglicéridos (con Intralipid*).
No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 30 mg/dl de ácido ascórbico.

* *Intralipid* es una marca registrada de Pharmacia AB, Clayton NC.

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.^{10,11}

Nota: El procedimiento puede sobrestimar los valores de la actividad de CK-MB si la actividad de la isoenzima CK-BB en suero es alta. No suele haber actividad de CK-BB en el suero de individuos normales y pacientes con infarto al miocardio.⁷ Se debe sospechar la presencia de una forma más amplia de CK-BB en la muestra si la actividad de CK-MB medida en este procedimiento representa más del 20 % de la actividad total de CK.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Dawson, D.M. et al., *Biochem Biophys. Res. Comm* 21:346 (1965).
- 2 Neumeir, D., *Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme*, Lang, Editor, Springer Verlag, ew York, 1981, 85-109.
- 3 Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. *Annu Rev Med* 1994;45:31-44.
- 4 Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation* 1993;88:750-763.
- 5 Guder WG, Zawta B et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. 1st Ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 24-5.
- 6 Stein, W., *Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts*. *J Lab Clin Med* 1985:572 (-7).
- 7 Klein G, Berger A, Bertholf R et al. Abstract: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. *Clin Chem* 2001; 47:
- 8 Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. *J Lab Clin Med* 2005:29 (301).
- 9 Datos archivados en Medica.
- 10 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.
- 11 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; *Effects of drugs on clinical laboratory tests*. *Clin Chem* 21. 246D, 1975.

Parámetros del ensayo (CKMB) EASYRA

Longitud de onda primaria (nm)	340
Longitud de onda secundaria (nm)	405
Tipo de reacción	Enzima (0)
Dirección de la reacción	Aumento
Blanco de reactivos	No
Blanco de muestra	No
Variación máxima del primer intervalo de absorbancia	0,003
Tiempo de reacción	9,3 min
Intervalo de calibración (máximo)	N/C
Estabilidad del reactivo cargado	30 días

Suero/Plasma

Volumen de la muestra (µl)	8,0
Volumen del diluyente (µl)	20
Volumen del reactivo R1 (µl)	160
Volumen del reactivo R2 (µl)	40
Decimales (valores por defecto)	0
Unidades (valores por defecto)	U/L
Factor de dilución	1:4 (1/5 de la muestra utilizada) (para extender el rango de medición)
Linealidad	5 hasta 100 U/L