



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

Isoenzima CK-MB

Método de inmunoinhibición

Reactivo para la determinación cuantitativa de la isoenzima CK-MB (CK-2) de la Creatina Quinasa [EC 2.7.3.2] en suero humano

REF 97217	R1 10 x 3 mL	R2 1 x 30 mL
REF 97317	R1 8 x 20 mL	R2 8 x 20 mL

CODIGO CNQ: MX

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50
Fax: (33) 03 23 256 256



IVD USO IN VITRO

SIGNIFICACION CLINICA (1)

La creatina quinasa es una enzima dimérica compuesta de dos subunidades. La subunidad M y la subunidad B. Estas subunidades están asociadas para formar 3 isoenzimas distintas: CK BB (CK-1), CK MB (CK-2) y CK-MM (CK-3).

La CK-MM es la forma predominante en el músculo esquelético. La CK-BB se concentra en el cerebro y los músculos lisos. La CK-MB está presente en una alta concentración en el miocardio (representando entre el 10 y 20 % de la actividad CK total) y en menor medida en el músculo esquelético (menos del 2 % de la actividad CK total).

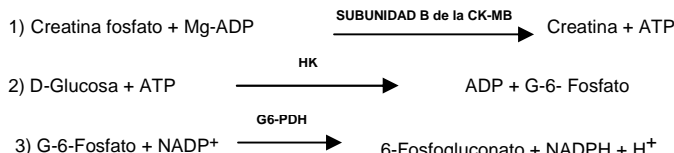
En ausencia de patología, la mayoría de la actividad CK del suero es debida a la CK-MM. El infarto de miocardio se acompaña de un aumento transitorio de la tasa de CK-MB en el suero. Esta aumenta entre las 4 y 6 horas después del comienzo de la crisis, alcanza un pico hacia las 12 a 24 horas posteriores, y regresa a un valor normal en las 48 horas siguientes.

PRINCIPIO (4) (5)

El reactivo CK-NAC modificado contiene un anticuerpo policlonal (específico del monómero CK-M) que inhibe la totalidad de la actividad CK-MM y la media de la actividad CK-MB.

Solo la actividad de la subunidad B no inhibida, que representa la mitad de la actividad CK-MB, es medida. Este método toma en cuenta que la actividad CK-BB en la muestra es despreciable.

El esquema reaccional es el siguiente:



El aumento de la absorbencia debido a la conversión del NADP^+ en NADPH medida a 340 nm es proporcional a la actividad CK-MB en la muestra.

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro (No pipetear con la boca)

- Consultar la FDS en vigor disponible sobre demanda o sobre www.biolabo.fr
 - Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
 - Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor.
- Por medida de seguridad, tratar toda muestra o reactivo de origen biológico como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

- Vial R1 (Enzimas-Substrato):

Utilizar un objeto no cortante para quitar la cápsula.

- REF 97217: verter sin demora 3 mL del Tampón en un vial R1.
 - REF 97317: verter sin demora el contenido de un vial R1 en un vial R2 (Tampón)
- Mezclar suavemente y esperar la disolución completa (aprox. 2 min).

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. REF 95516, REF 95526 HDL LDL CK-MB controls (origen humano)
3. REF 95506 Calibrador HDL LDL CK-MB (origen humano)

REACTIVOS

SUBS	SUSTRATO- ENZYMAS	Cuidado
Creatina Fosfato		30 mmol/L
D-Glucosa		20 mmol/L
N-Acetil-L-cisteína		20 mmol/L
AMP		5 mmol/L
ADP		2 mmol/L
NADP		2 mmol/L
AP5A		10 µmol/L
G-6-PDH (Glucosa-6- Fosfato deshidrogenasa)	> 2500 UI/L	
HK (hexoquinasa)	> 3000 UI/L	

Antes de reconstitución:

Skin Irrit. 2: H315 – Provoca irritación cutánea.
STOT SE 3: H335 – Puede irritar las vías respiratorias.
Acute Tox. 4: H302+H312+H332 – Nocivo en caso de ingestión, Nocivo en contacto con la piel, Nocivo en caso de inhalación.
Eye Irrit. 2: H319 - Provoca irritación ocular grave.
P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P264: Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación. P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P304+P340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. P305+351+338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P501: Eliminar el contenido/el recipiente conforme a la legislación sobre desechos peligrosos.
Para más detalles, consultar la Ficha de datos de Seguridad (FDS)
Sustancia al origen de la clasificación: **Creatina fosfato 25 - < 50%**

BUF	TAMPON	Peligro
Acetato de imidazolina, pH 6,8 a 30°C		100 mmol/L
EDTA Na2		2 mmol/L
Acetato de Magnesio		10 mmol/L

Anticuerpo policlonal Anti CK-M humano : cantidad para inhibir el CK-M hasta 2000 UI/L a +37°C

Contiene también estabilizadores y excipientes.

Repro. 1B: H360 - Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto.

P201: Pedir instrucciones especiales antes del uso. P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad. P308+P313: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico. P405: Guardar bajo llave. P501: Eliminar el contenido/el recipiente conforme a la legislación sobre desechos peligrosos.

Sustancia al origen de la clasificación: **Imidazol < 1%**

Para más detalles, consultar la Ficha de datos de Seguridad (FDS)

Después de reconstitución: El reactivo de trabajo (R1+R2) está clasificado como R2 (Tampón)

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar a 2-8°C, en el vial de origen bien cerrado y protegido de la luz.

- Utilizados y almacenados en las condiciones adecuadas, antes de abrir, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.
- Después de reconstitución, el reactivo de trabajo es estable por lo menos 3 semanas en ausencia de contaminación.

No utilizar el reactivo si está turbio o si el blanco de reactivo medido a 340 nm es > 0,700.

- No utilizar el reactivo reconstituido después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

CALIBRACION

La validez de los resultados depende de la exactitud de la calibración del instrumento, de la justa medida del tiempo, del respeto de la relación volumen reactivo / volumen muestra y del control de la temperatura.

- Calibrador humano HDL LDL CK-MB REF 95506 (valor atribuido bajo control metrológico, para tratamiento estadístico de los datos)
- O utilizar el factor teórico (§ CALCULO).

CONTROL DE CALIDAD CODIGO CNQ: MX

- **REF** 95516 control HDL LDL CK-MB Tasa I
- **REF** 95526 control HDL LDL CK-MB Tasa II
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir el test utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un suero de control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, verificar los parámetros del análisis: longitud de onda, temperatura, volumen muestra / volumen reactivo, tiempo de medida y factor de calibración.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

PREPARACION DE LA MUESTRA (1) (2)

Suero no hemolizado. Conservar a 2-8°C en un recipiente hermético para prevenir las pérdidas en CO₂. No se recomienda el plasma, los anticoagulantes como la heparina, el EDTA, el citrato o el fluoruro que interfieren con la determinación.

En los casos de sospecha de infarto de miocardio, se recomienda extraer la muestra del paciente después de 6 h, 12 h y 24 h; el número mínimo de toma de muestra requerida es de dos: 12 h y 24 h después de la aparición de los síntomas.

La CK-MB es estable en el suero:

- 4 a 8 h a temperatura ambiente.
- 1 a 2 días a 2-8°C.
- 1 mes a -20°C.

INTERFERENCIAS (1) (3) (4) (5)

Los resultados obtenidos sobre la serie de analizadores KENZA están indicados en el § Prestaciones.

Hemólisis: interferencia de la adenilato kinasa y otros intermediarios de la reacción como el ATP (adenosina tri-fosfato) o la glucosa-6-Fosfato (G₆P).

CK-BB: puede interferir con el test (raramente presente en el suero). **Isoenzimas atípicas:** interferencia posible (por ejemplo un complejo CK-BB e inmunoglobulina G, más frecuente en la mujer anciana). Sin embargo la presencia de estas isoenzimas atípicas no disminuye en nada el valor del test porque sus tasas quedan estables cuando en el infarto de miocardio, el valor del CK-MB aumenta y vuelven rápidamente a la normalidad después de 48 h.

Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

	30°C	37°C
CK-MB	< 16 UI/L	< 25 UI/L
CK-MB/CK (%)	Un ratio de CK-MB entre 6 y 25% es significativo de una necrosis del tejido del músculo cardiaco. En caso de sospecha de un infarto de miocardio, los valores de la CK-MB aumentarán y volverán a la normalidad en 48 horas.	

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios intervalos de referencias para la población estimada.

BIBLIOGRAFIA

- (1) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 664-667, 1185-1190.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 310-315
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-189 à 3-190
- (4) MATTENHEIMER H. CK MB Methods and clinical significance ; Proceedings of the CK MB symposium, Philadelphia, 1981 ; 51-57
- (5) STEIN W. CK MB methods and clinical significance; Proceedings of the CK MB symposium, Philadelphia, 1981; 61-74.
- (6) National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T

PRESTACIONES a 37°C sobre KENZA 240TX

Dominio de medida: entre 11 y 800 UI/L

Límite de detección: aproximadamente 3 UI/L

Precisión:

Intra-serie N = 20	Tasa baso	Tasa normal	Tasa elevada	Inter-serie N = 20	Tasa baso	Tasa normal	Tasa elevada
Media UI/L	22.7	44.9	170	Media UI/L	23.3	45.4	169.2
S.D. UI/L	0.9	1.0	2.6	S.D. UI/L	1.1	1.3	3.1
C.V. %	3.8	2.1	1.5	C.V. %	4.7	2.8	1.9

Comparación con reactivo comercial:

Test realizado sobre sueros humanos (n=100) entre 10 y 750 UI/L

$$y = 0.9684x + 0.4074 \quad r = 0.9994$$

Interferencias:

Bilirrubina total	Interferencia negativa a partir de 276 µmol/L
Bilirrubina directa	No hay interferencia hasta 443 µmol/L
Ácido ascórbico	No hay interferencia hasta 2500 mg/dL
Glucosa	No hay interferencia hasta 980 mg/dL
Turbidez	No hay interferencia de la turbidez
Hemoglobina	Interferencia positiva a partir de 38 µmol/L

Otras sustancias son susceptibles de interferir (ver §Interferencias)

Estabilidad a bordo: 3 semanas

Frecuencia de calibración: al menos 7 días

Efectuar una nueva calibración en caso de cambio de lote de reactivo, si los resultados de los controles están fuera del intervalo establecido, y después de operación de mantenimiento.

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Introducir en una cubeta de lectura de 1 cm de trayecto óptico:	
Reactivo	1 mL
Dejar la temperatura equilibrarse a 37°C y luego añadir :	
Muestra	50 µL
Mezclar. Después de 5 minutos, leer la absorbencia a 340 nm cada minuto durante 5 minutos. Calcular la media de las variaciones de absorbencia por minuto (ΔAbs./min.).	

Nota:

- 1- Los datos de prestaciones y estabilidad han sido validados sobre los analizadores KENZA 240 TX y KENZA 450TX.
- 2- Sobre espectrofotómetro y cualquier otro analizador automático los datos de estabilidad a bordo y prestaciones deberán ser validados por el usuario. Propuestas de aplicaciones están disponibles por petición.

CALCULO

Con multicalibrador sérico:

$$\text{Actividad CK} = \frac{(\Delta\text{Abs}/\text{min}) \text{ Prueba}}{(\Delta\text{Abs}/\text{min}) \text{ Calibrador}} \times \text{Concentración del Calibrador}$$

Con factor teórico:

$$\text{Actividad UI/L} = \Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Factor}$$

$$\text{Factor} = \frac{\text{VR} \times 1000}{6.3 \times \text{VE} \times \text{P}}$$

Con:

- VR = Volumen reaccional total en mL
- VE = Volumen Muestra en mL
- 6.3 = Coeficiente de extinción molar del NADPH a 340nm
- P = Trayecto óptico en cm.

Ejemplo, en técnica manual, (cubeta 1 cm, q 37°C, 340 nm):

$$\text{UI/L} = (\Delta\text{Abs}/\text{min}) \times 6667$$

$$\mu\text{Kat/L} = \frac{\text{UI/L}}{60}$$