



CK-MB NAC

LINEA LIQUIDA



AA

Método UV para la determinación de la isoenzima MB de Creatina Kinasa en suero o plasma mediante anticuerpos anti CK-M

SIGNIFICACION CLINICA

La Creatina Kinasa (CK) es una enzima intramuscular constituida por una subunidad M (músculo) y otra subunidad B (brain = cerebro) que se combinan dando lugar a las isoenzimas CK-MM (muscular), CK-BB (cerebral) y CK-MB (miocárdica). La elevación sérica de CK y de CK-MB constituye un indicador de injuria de miocardio. Luego de un infarto agudo de miocardio, en aproximadamente el 55% de los casos, el pico máximo de elevación de CK y CK-MB se produce en forma simultánea, mientras que en el 45% de los casos la elevación máxima de CK-MB precede a la de CK total.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El método se basa en la inhibición específica de las subunidades CK-M con anticuerpos anti CK-M. Los anticuerpos inhiben tanto la isoenzima MM como las subunidades M correspondientes a CK-MB. Las subunidades B se determinan mediante el empleo de un sistema reactivo basado en una técnica analítica optimizada por la IFCC, con N-acetilcisteína como activador, adicionado de anticuerpos anti CK-M.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de buffer imidazol.

B. Reactivo B: solución conteniendo creatina fosfato, anticuerpos anti-CK M y componentes reactivos en cantidades suficientes para las siguientes concentraciones finales:

imidazol	100 mmol/l; pH 6,7
creatina fosfato	30 mmol/l
ADP	2 mmol/l
glucosa	20 mmol/l
NADP	2 mmol/l
hexoquinasa	≥ 2500 U/l
glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	≥ 2000 U/l
acetato de magnesio	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
di-(adenosina-5') pentafofosfato	10 umol/l
N-acetil cisteína (NAC)	20 mmol/l

Anticuerpos capaces de inhibir 1000 U/l de CK-M.

Control: vial conteniendo CK-MB de origen humano, liofilizada (ver tabla adjunta para valor teórico).

REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica (cloruro de sodio 9 g/dl).
Agua destilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usar-

se separados o como **Reactivo único**, mezclando 5 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 5 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

Control: abrir el vial teniendo la precaución de no perder material. Reconstituir con el volumen de agua destilada indicado en el rótulo. Tapar y esperar 5 minutos. Disolver el contenido completamente por inversión del vial. El Control de CK-MB reconstituido se trata de la misma manera que una muestra desconocida.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

El Control ha sido examinado para antígeno de superficie del virus de hepatitis B, virus de hepatitis C y anticuerpos contra HIV 1/2, encontrándose no reactivo. No obstante, las muestras y el Control deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE

ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Una vez abiertos, no deben permanecer fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): estable 20 días en refrigerador (2-10°C) a partir del momento de su mezclado.

Control reconstituido: estable 3 días refrigerado (2-10°C), 2 días a 25°C o 3 meses congelado (-20°C). No congelar y descongelar repetidamente.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único superiores a 0,500 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en el caso de que la muestra a emplear sea plasma, debe usarse heparina o EDTA como anticoagulante. Se recomienda el empleo de **Anticoagulante W** de Wiener lab.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por bilirrubina hasta 390 mg/l (39 mg/dl), triglicé-

ridos hasta 3,0 g/l (300 mg/dl) ni hemoglobina hasta 0,06 g/dl (60 mg/dl) (hemólisis leve). Los sueros con hemólisis visible producen valores falsamente aumentados, por lo que no deben ser usados.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser fresca. Refrigerada (2-10°C) pierde hasta un 10% de actividad enzimática en un día.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a la temperatura indicada en PROCEDIMIENTO.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366).
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Seleccionar la temperatura de acuerdo al instrumental. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
- Tiempo de reacción: 6 minutos
- Volúmenes de muestra y reactivo: pueden variarse proporcionalmente (ej. 100 ul muestra + 2,5 ml Reactivo único o 20 ul muestra + 500 ul Reactivo único).

PROCEDIMIENTO
TECNICA CON REACTIVO UNICO
 Llevar el aparato a cero con agua destilada.
 En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada (25, 30 ó 37°C) colocar:

Reactivo único	1 ml
Preincubar unos minutos. Luego agregar:	
Muestra	40 ul

Mezclar inmediatamente por inversión. Esperar 10 minutos. Ajustar la absorbancia a un valor de referencia y disparar simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia cada minuto, durante 3 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$) restando a cada lectura la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

CK-MB (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x factor
 Medida a 340 nm: CK-MB (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x 8.254
 Medida a Hg 334: CK-MB (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x 8.414
 Medida a Hg 366: CK-MB (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x 14.858
 Los factores arriba mencionados ya contemplan la corrección necesaria para convertir el valor de CK-B en CK-MB.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Control CK-MB**) con actividades conocidas de CK-MB, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores	≤ 10 U/l	≤ 16 U/l	≤ 25 U/l

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

CK-MB (U/l) x 0,017 = CK-MB (ukat/l)

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Se tiene alta probabilidad de daño de miocardio si se cumplen simultáneamente las siguientes condiciones:

1- La actividad de CK total excede los siguientes rangos normales:

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Varones	10-80 U/l	15-130 U/l	24-195 U/l
Mujeres	10-70 U/l	15-110 U/l	24-170 U/l

Si se sospecha daño de miocardio y los valores se encuentran por debajo del rango normal, existe la posibilidad de un infarto reciente. En este caso debe repetirse la determinación luego de 4 horas.

2- La actividad de CK-MB excede los valores normales. Ver VALORES DE REFERENCIA.

3- El porcentaje de CK-MB se encuentra entre el 6-20% del valor de CK total.

Si el porcentaje es menor al 6% es probable que haya daño del músculo esquelético. Si el porcentaje supera el 20% del valor total de CK se puede sospechar de la presencia de una forma macro de CK (CK atípica) que no es inhibida por los anticuerpos anti CK-M.

La presencia de CK atípica puede determinarse por:

- a) Persistencia por más de 48 horas (la CK-MB decae aproximadamente a las 30-48 horas de iniciado el infarto).
- b) Estabilidad frente al tratamiento de la muestra a 40°C durante 20 minutos.
- c) Análisis electroforético (se obtiene una banda entre las isoenzimas MM y MB).

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Muestras con actividad CK total que supera las 1000 U/l deben diluirse con solución fisiológica. El resultado obtenido debe multiplicarse por la dilución efectuada.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se aplicó el protocolo EP15-A del CLSI. Se corrieron dos niveles de actividad, cada uno por cuadruplicado durante 5 días. Con los datos obtenidos, se calcularon la precisión intraensayo y total.

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D. S.	C. V.
41 U/l	± 0,69 U/l	1,7%
232 U/l	± 2,55 U/l	1,1%

Precisión total (n = 20)

Nivel	D. S.	C. V.
41 U/l	± 0,98 U/l	2,4%
232 U/l	± 3,94 U/l	1,7%

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 500 U/l.

c) Sensibilidad analítica: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros a 340 nm con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001, el mínimo cambio de actividad detectable será 8 U/l.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

60 ml: 1 x 50 ml A

1 x 10 ml B

1 x C \rightarrow 2 ml

(Cód. 1271361)

60 ml: 3 x 17 ml A

1 x 10 ml B

1 x C \rightarrow 2 ml

(Cód. 1009333)

120 ml: 5 x 20 ml A

1 x 20 ml B

1 x C \rightarrow 2 ml

(Cód. 1009249)

120 ml: 2 x 50 ml A

1 x 20 ml B

1 x C \rightarrow 2 ml


(Cód. 1009608)

BIBLIOGRAFIA

- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- I.F.C.C. - Clínica Química Acta 105:147F (1980).
- Würzburg, U. et al - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15:131 (1977).
- Stein, W. - Med. Welt 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8. June 1979 (Abstract).
- Lorenzo, L.; Capriotti, G.; Rojkin, F. - Revista A.B.A. 55/3 (1991).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000..
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS)
- Protocols EP 15A (2001) / EP 17A (2004).

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-13



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina