



CK-NAC

unitest y AA

Método UV optimizado (IFCC) para la determinación de Creatina Kinasa (CK) en suero o plasma

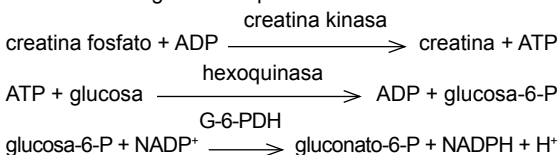
SIGNIFICACION CLINICA

La creatina kinasa (CK) es una enzima intracelular localizada en mayor proporción en músculos cardíaco y esquelético y también en cerebro. Un aumento en la actividad sérica, es por lo tanto indicio de lesión celular.

En el caso del infarto agudo de miocardio (IAM), la actividad sérica de CK comienza a aumentar entre 2 y 6 horas después de producido el episodio y alcanza un máximo después de 18 a 24 horas. Los picos alcanzados pueden llegar a ser 20 veces el límite superior normal, razón por la cual es quizás la prueba más sensible para el diagnóstico de IAM.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



En el esquema de reacción interviene la N-acetilcisteína (NAC) como activador de la creatina kinasa, recomendado por la IFCC.

REACTIVOS PROVISTOS

B. Reactivo B: solución de buffer imidazol pH 6,7.

A. Reactivo A: frasco con sustrato desecado conteniendo 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 (G-6-PDH) ...	≥ 2000 U/l
acetato de magnesio	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
di-(adenosina-5') pentafofato	10 umol/l
N-acetilcisteína	20 mmol/l

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo B: listo para usar.

Reactivo A: reconstituir de acuerdo a lo siguiente:

- CK-NAC UV AA: disolver cada vial de Reactivo A con 20 ml de Reactivo B. Fechar.
- CK-NAC UV unitest: disolver cada vial de Reactivo A con 2,5 ml de Reactivo B. Fechar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

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.

Reactivo A reconstituido: estable 20 días en refrigerador (2-10°C) o 3 días a temperatura ambiente a partir del momento de su reconstitución.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo A reconstituido superiores a 0,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de emplear plasma, debe usarse heparina (concentración < 15 U/ml) o EDTA como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por bilirrubina hasta 90 mg/l, triglicéridos hasta 13 g/l ni heparina hasta 50 U/l. Hemólisis visible (concentración de hemoglobina > 0,08 g/dl) interfiere.

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 preferentemente fresca. Puede conservarse hasta 1 semana en refrigerador (2-10°C) sin agregado de conservadores.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

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

CONDICIONES DE REACCION

(Aumento de absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366).

- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
- Tiempo de reacción: varía de acuerdo al procedimiento seleccionado.

PROCEDIMIENTO

Llevar el aparato a cero con agua destilada.

A) 30 - 37°C

I- MACROTECNICA

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo A reconstituido	2,5 ml
---------------------------------	--------

Preincubar 3-4 minutos. Luego agregar:

Muestra	50 ul
----------------	-------

Mezclar inmediatamente y esperar 3 minutos. Ajustar la absorbancia a una lectura de referencia disparando simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia luego de 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

II- MICROTECNICA

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo A reconstituido	1 ml
---------------------------------	------

Preincubar 3-4 minutos. Luego agregar:

Muestra	20 ul
----------------	-------

Mezclar inmediatamente y esperar 3 minutos. Continuar de modo similar al descrito en el procedimiento (A-I).

B) 25°C

I- MACROTECNICA

Como la actividad a esta temperatura es menor, deben emplearse 100 ul de Muestra para obtener la sensibilidad adecuada. Registrar las lecturas a partir de los 4 minutos de agregada la Muestra. Seguir el procedimiento indicado en A-I.

II- MICROTECNICA

Seguir el procedimiento indicado en A-II, pero empleando 50 ul de Muestra.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$CK \text{ U/I} = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente, como se indica en la siguiente tabla:

Temperat.	30-37°C		25°C	
	I o II	I	II	
340 nm	8.095	4.127	3.333	
334 nm	8.252	4.207	3.398	
366 nm	15.000	7.647	6.176	

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de creatina kinasa, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C	30°C	37°C*
Varones	hasta 80 U/I	hasta 130 U/I	hasta 195 U/I
Mujeres	hasta 70 U/I	hasta 110 U/I	hasta 170 U/I

* Calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Creatina kinasa (U/I) x 0,017 = Creatina kinasa (ukat/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra en un mismo día se obtiene lo siguiente:

Nivel	D.S.	C.V.
144,5 U/I	± 3,36 U/I	2,33 %
450,4 U/I	± 5,98 U/I	1,33 %

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
147,5 U/I	± 3,13 U/I	2,12 %
451,2 U/I	± 6,89 U/I	1,53 %

b) Sensibilidad: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros 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 de 8 U/I (a 340 nm y 30 ó 37°C).

c) Rango dinámico: el rango útil de lectura se extiende hasta 0,250 D.O. (340 nm) o 0,140 D.O. (366 nm). Para valores superiores se debe utilizar muestra diluida con solución fisiológica corrigiendo consecuentemente los resultados.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

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

PRESENTACION

CK-NAC UV AA:

- 3 x 20 ml (60 ml Reactivo B) (Cód. 1271303).
- 3 x 20 ml (3 x 20 ml Reactivo B) (Cód. 1009309).
- 10 x 20 ml (200 ml Reactivo B) (Cód. 1271353).

CK-NAC UV unitest:

- 20 x 2,5 ml (Cód. 1271351).

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. - Clinica Chimica Acta 105:147 F (1980).
- I.F.C.C. - Ann. Biol. Clin. 44/4:419 (1986).
- Stein, W. - Med. Welt. 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - 3rd European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June, 1979.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 4th ed., 2001.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).

SÍMBOLOS

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 / Cáustico



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.
 CK-NAC UV unitest:
 Disp. N° 7448/87 - 370/00
 CK-NAC UV AA:
 Disp. N° 5999/83-5234/98-
 955/02



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina