



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

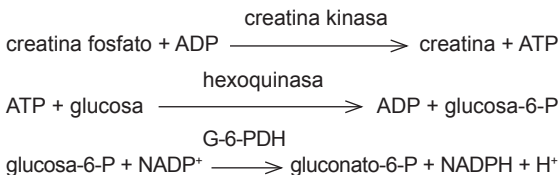
SIGNIFICACION CLINICA

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 la reacción interviene la N-acetilcisteína (NAC) como activador de la creatina kinasa, recomendado por la I.F.C.C.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de buffer imidazol.

B. Reactivo B: solución de componentes conteniendo creatina fosfato 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 (G-6-PDH) ...	≥ 2000 U/l
acetato de magnesio	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
di-(adenosina-5') pentafofato	10 μmol/l
N-acetilcisteína	20 mmol/l

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usarse 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).

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

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 de la fecha de su preparación.

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 > 0,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado

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

b) Aditivos: en caso de emplear plasma, debe usarse heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no interfieren bilirrubina hasta 390 mg/l (39 mg/dl), triglicéridos hasta 12,5 g/l (1250 mg/dl) ni hemoglobina hasta 0,15 g/dl (150 mg/dl). 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).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

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

TECNICA CON REACTIVO UNICO

Llevar el aparato a cero con agua destilada.

A) 30 - 37°C

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

Reactivo único	1 ml
-----------------------	------

Preincubar 3-4 minutos. Luego agregar:

Muestra	40 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.

B) 25°C

Seguir el procedimiento indicado en A), pero empleando 80 ul de Muestra y esperando 4 minutos luego del agregado de la misma.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$CK (U/l) = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$

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

Temperatura	30-37°C	25°C
Long. onda		
340 nm	4.127	2.142
334 nm	4.207	2.183
366 nm	7.429	3.856

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 ⁽¹⁾
Varones	hasta 80 U/l	hasta 130 U/l	hasta 195 U/l
Mujeres	hasta 70 U/l	hasta 110 U/l	hasta 170 U/l

⁽¹⁾Calculados

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

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se aplicó el protocolo EP15-A del CLSI. Se analizaron 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.
162 U/l	± 1,08 U/l	0,66 %
362 U/l	± 1,61 U/l	0,44 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
163 U/l	± 4,10 U/l	2,51 %
356 U/l	± 6,72 U/l	1,89 %

b) Linealidad: normalmente, la reacción es lineal hasta un $\Delta A/\text{min}$ de 0,130 D.O. (aproximadamente 550 U/l). Para valores superiores diluir la muestra 1/2 ó 1/5 con solución fisiológica y repetir la determinación respetando las mismas condiciones de ensayo y multiplicando los resultados por la dilución efectuada. En analizadores automáticos puede observarse una linealidad de hasta 1800 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

120 ml: 5 x 20 ml Reactivo A
1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1271360)

120 ml: 5 x 20 ml Reactivo A
1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009331)

120 ml: 5 x 20 ml Reactivo A
1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009251)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009609)


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).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AAC Press, 5th ed., 2000.
- Stein, W. - Med. Welt. 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - 3rd European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June, 1979.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P, (1986).

- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

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.
Cert. N°: 4967/04

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina