



MONOCLONAL

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 monoclonales 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 monoclonales anti CK-M.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales para determinaciones individuales conteniendo cantidades suficientes para obtener las siguientes concentraciones una vez reconstituidos:

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

B. Reactivo B: solución de buffer imidazol, 100 mmol/l; pH 6,7.

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

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo B: listo para usar.

Reactivo A: agregar 2,5 ml de Reactivo B a un vial de Reactivo A. Tapar y agitar hasta disolución completa.

Control: abrir el vial teniendo la precaución de no perder material. Pipetear exactamente 1,0 ml de agua destilada. 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 HIV, HCV y HBV encontrándose no reactivo. No obstante, debe ser empleado como si se tratara de material infectivo.

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

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

Control reconstituido: estable 3 días refrigerado (2-10°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 A reconstituido superiores a 0,800 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: los sueros con hemólisis visible o intensa, 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

(Aumento de absorbancia)

- 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: 15 minutos
- Volúmenes de muestra y reactivo: pueden variarse proporcionalmente (ej. 40 ul muestra + 1 ml Reactivo A reconstituido o 20 ul muestra + 500 ul Reactivo A reconstituido).

PROCEDIMIENTO

Llevar el aparato a cero con agua destilada. Ver INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS.

En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada (25, 30 ó 37°C) colocar:

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

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	100 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 5 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

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

Medida a 340 nm: $CK-MB (U/l) = \Delta A/\text{min} \times 8.254$

Medida a Hg 334: $CK-MB (U/l) = \Delta A/\text{min} \times 8.414$

Medida a Hg 366: $CK-MB (U/l) = \Delta A/\text{min} \times 14.858$

Los factores arriba mencionados ya contemplan la corrección necesaria para convertir el valor de CK-MB 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

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

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$CK-MB (U/l) \times 0,01 = CK-MB (ukat/l)$

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 (cloruro de sodio 0,9%). El resultado obtenido debe multiplicarse por la dilución efectuada.

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando simultáneamente replicados de una misma muestra, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
30 U/l	$\pm 1,7 U/l$	5,7 %
80 U/l	$\pm 3,0 U/l$	3,7 %

b) **Límite de detección:** depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. De acuerdo con la sensibilidad requerida, en espectrofotómetro a 340 nm (con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, reproducibilidad ± 2 nm, luz espuria $\leq 0,5\%$, semiancho de banda ≤ 8 nm), para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será 8 U/l.

c) **Rango dinámico:** el rango útil de lectura se extiende hasta 0,100 $\Delta A/\text{min}$ (340/334/366 nm).

d) **Linealidad:** la reacción es lineal hasta 800 U/l (a 37°C).

PRESENTACION


- 19 x 2,5 ml con Control (Cód. 1271352).

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 Chimica Acta 105:147F (1980).
- Fried, E. et al. - Rev. Asoc. Bioq. Arg. 243:185 (1980).
- Wu, A.; Bowers, G. - Clin. Chem. 28/10:2017 (1982).
- Urdal, P.; Landaas, S. - Clin. Chem. 25:461 (1979).
- Gerhardt, W.; Waldenstrom, J. - Clin. Chem. 28:277 (1982).
- 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, 4th ed., 2001.

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.
Cert. N°: 40/92



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina