



# 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:

<b>Reactivo único</b>	1 ml
-----------------------	------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

<b>Muestra</b>	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**

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

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-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**

$CK-MB (U/l) \times 0,017 = CK-MB (ukat/l)$

**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:

- Persistencia por más de 48 horas (la CK-MB decae aproximadamente a las 30-48 horas de iniciado el infarto).
- Estabilidad frente al tratamiento de la muestra a 40°C durante 20 minutos.
- 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 → 2 ml  
(Cód. 1271361)

60 ml: 3 x 17 ml A  
1 x 10 ml B  
1 x C → 2 ml  
(Cód. 1009333)

120 ml: 5 x 20 ml A  
1 x 20 ml B  
1 x C → 2 ml  
(Cód. 1009249)

120 ml: 2 x 50 ml A  
1 x 20 ml B  
1 x C → 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, 5<sup>th</sup> 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