

CK NAC (IFCC)

Reactivo para la determinación cuantitativa de Creatin Quinasa (activada por N-acetil Cisteína) en suero.

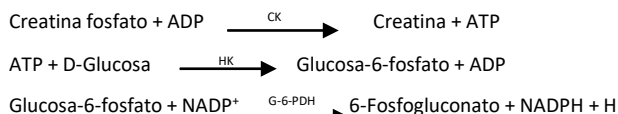
Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

SIGNIFICANCIA CLINICA

La enzima Creatin Quinasa (CK) cataliza la reacción reversible entre creatina y ATP para formar creatina fosfato y ADP. Se localiza en el tejido cardíaco, cerebral y esquelético. Consecuentemente, la enfermedad o daño de alguno de estos tejidos (infarto al miocardio, enfermedad cerebro-vascular aguda, distrofia muscular, etc.), produce un aumento en los niveles séricos de la enzima. Tras un infarto al miocardio, la concentración de la CK se eleva dentro de las siguientes 4 a 6 horas, alcanzando un máximo a las 18 a 30 horas, volviendo a su nivel normal dentro del tercer día.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El método líquido VALTEK® se basa en la proposición de IFCC.



La CK cataliza la conversión de creatina fosfato y ADP a creatina y ATP. El ATP y glucosa presentes son convertidos en glucosa-6-fosfato y ADP, por acción de la enzima hexoquinasa (HK). La glucosa-6-fosfato formada es oxidada por la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en presencia del cofactor nicotinamida adenina dinucleotido fosfato (NADP+). La velocidad a la cual se forma el NADPH, es proporcional a la actividad de la enzima presente en la muestra, y se cuantifica midiendo el aumento de absorbancia a 340 nm.

REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición de los Reactivos:

REACTIVO R1

Buffer Imidazol pH 6,6	0,10 mol/L
Mg2+	10 m M
EDTA	2 m M
N-Acetil Cisteína	20mM
G-6-PDH	>3.000 U/L
HK	>3.000 U/L
Estabilizantes y preservantes	c.s.

REACTIVO R2

Buffer Tricine pH 7.5	40mM
Adenosina-5'-monofosfato (AMP)	5 mM
Creatina fosfato	30 mM
Adenosina-5'-difosfato (ADP)	2 mM
NADP+	2 mM
D-Glucosa	20 mM
Estabilizantes y preservantes	c.s.

Preparación del Reactivo de Trabajo: Mezclar 1 mL. de Reactivo 1 con 200 ul. de Reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción.

Estabilidad del reactivo de trabajo: 30 días entre 2° y 8°C., Descartar el reactivo si su absorbancia contra blanco de agua es mayor de 0,7 O.D. a 340 nm..

MUESTRA

Utilizar suero fresco libre de hemólisis o plasma heparinizado. La CK es estable por 24 horas a temperatura ambiente y 14 días entre 2° y 8°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 340 nm, baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

TECNICA

Llevar el reactivo a la temperatura de reacción (30° ó 37°C) y poner el espectrofotómetro en cero contra blanco de agua destilada.

Reactivo trabajo	(mL)	1.00
Muestra	(mL)	0.02
Mezclar y transferir a la cubeta del equipo. Incubar 2 minutos a la temperatura de medición (30° ó 37°C). Leer la absorbancia inicial, y repetir la lectura a intervalos de 60 segundos por los próximos 3 minutos.		

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
 - El lote de reactivo cambia
 - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
 - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CALCULOS

Determine el cambio de absorbancia por minuto ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$)

$$\text{Actividad CK (UI/l)} = \Delta\text{Abs}/\text{min} \times 8095$$

$$\text{FACTOR} = \frac{V_t}{\sum_{p-\text{NADPH } 340} \times P \times V_m} \times 1000 = 8095$$

V_t = Volumen total de reacción

$\sum_{\text{NADPH } 340}$ = Coef. de extinción molar del NADPH a 340 nm

P = Espesor del paso de luz en la cubeta

V_m = Volumen de muestra

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para CK-NAC por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- El factor podría variar en autoanalizadores por diferencia en el espesor de paso de luz. En este caso utilizar un calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130) para obtener el factor.
- Si el $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ es mayor que 0.230, repetir el ensayo diluyendo la muestra 1:1 con suero fisiológico. Multiplicar el resultado obtenido por 2.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Contiene Azida de Sodio 0.05% (Nº CAS 26628-22-8) No peligroso a esta concentración. No ingerir. En contacto con metales pesados, como tuberías de cobre o plomo, podría formar azida metal que es explosiva, elimine los residuos con grandes volúmenes de agua y/o de conformidad con las regulaciones locales
- En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

-Linealidad: hasta 1000 U/L .

Para valores superiores 1000 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 1 U/L de CK.

-Interferencias: Hemoglobina sobre 1,0gr/dL, bilirrubina sobre 20mg/dL y la lipemia (triglicéridos sobre 1000 mg/dL) podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (5).

-Exactitud: Los reactivos VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

-Repetibilidad intraserie: n=20

<u>Nivel</u>	<u>Media (U/lt)</u>	<u>C.V.</u>
Normal	159	1,32%
Patológico	445	1,86%

-Reproducibilidad interserie: n=20

<u>Nivel</u>	<u>Media (U/lt)</u>	<u>C.V.</u>
Normal	156	0,70%
Patológico	439	0,88%

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

- Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Temperatura medición	25°C	30°C	37°C
Hombres (U/L)	10 a 80	15 a 130	24 a 195
Mujeres (U/L)	10 a 70	15 a 110	24 a 170

PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO
300100	Reactivo 1 2 x 40 mL
	Reactivo 2 2 x 8 mL
200100	Reactivo 1 2 x 40 mL
	Reactivo 2 2 x 8 mL

BIBLIOGRAFIA

- 1.Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B.Saunders, Philadelphia, PA., 1976.
- 2.Szasz, G., Clin. Chem. 22 (650), 1976.
- 3.Moren, L.G., et al., Clin. Chem. 23(1569), 1977.
- 4.Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21(10), 1975.
5. Schumann G., et al., Clin Chem Lab. Med. 40(7), 2002

REV Nº 2