CK-NAC FS*

IFCC

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de creatin-quinasa (CK) en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase					
1 1601 99 10 021	R1	5 x 20 mL	+	R2	1 x	25 mL
1 1601 99 10 026	R1	5 x 80 mL	+	R2	1 x	100 mL
1 1601 99 10 023	R1	1 x 800 mL	+	R2	1 x	200 mL
1 1601 99 10 704	R1	8 x 50 mL	+	R2	8 x	12,5 mL
1 1601 99 10 917	R1	8 x 60 mL	+	R2	8 x	15 mL
1 1601 99 10 930	R1	4 x 20 mL	+	R2	2 x	10 mL
1 1601 99 10 191	R1	4 x 36 mL	+	R2	4 x	9 mL
1 1601 99 10 940	R1	8 x 60 mL	+	R2	8 x	15 mL
1 1601 99 90 305	R1	10 x 12 mL	+	R2	2 x	20 mL

Resumen [1,2]

La creatin–quinasa (CK) es una enzima formada por isoenzimas principalmente del músculo (CK-M) y el cerebro (CK-B). La CK existe en el suero en forma dimérica como CK-MM, CK-MB, CK-BB y como macroenzima. Los valores elevados de CK son observados en daños y lesiones del músculo cardíaco y en enfermedades del músculo esquelético. La medición de CK se usa sobre todo conjuntamente con el CK-MB para el diagnóstico y vigilancia del infarto de miocardio.

Método

Test UV optimizado de acuerdo a DGKC (Sociedad Alemana de Química Clínica) y la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio).

Principio

Fosfato de creatina + ADP <—CK—> Creatina + ATP

Glucosa + ATP <—HK—> Glucosa–6–fosfato + ADP

Glucosa–6–fosfato + $NADP^+$ <—G6P-DH—> Gluconato–6–fosfato + NADPH + H^+

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1	Imidazol	pH 6,5	60 mmol/L
	Glucosa		27 mmol/L
	N–Acetilcisteina	(NAC)	27 mmol/L
	Acetato de magnesio		14 mmol/L
	EDTA-Na_2		2 mmol/L
	NADP		2,7 mmol/L
	Hexoquiinasa	(HK)	≥ 5 kU/L
R2	Imidazol		160 mmol/L
	ADP		11 mmol/L
	AMP		28 mmol/L
	Deadenosina pentafosfato		55 µmol/L
	Glucosa–6–fosfato dehidrogenasa (G6P-DH)		≥ 14 kU/L
	EDTA-Na_2		2 mmol/L
	Fosfato de creatina		160 mmol/L

Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado de expiración, si se almacena entre 2 – 8 °C, protegidos de la luz y si se evita la contaminación. ¡No congelar los reactivos!

Advertencias y Precauciones

1. Los reactivos contienen azida de sodio (0.95 g/L) como preservante. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas.
2. Tomar las precauciones necesarias para el uso de los reactivos de laboratorio.

Manipulación de Desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Inicio con Sustrato

Los reactivos están listos para usar.

Inicio con muestra

Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2
(p. ej. 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreactivo

Estabilidad:	3 semanas de	2 a 8 °C
	2 días de	15 a 25 °C

¡El monoreactivo debe ser protegido de la luz!

Materiales requeridos pero no provistos

Solución de NaCl 9 g/L.
Equipo General de Laboratorio.

Tipo de muestra

Suero, plasma heparinizado o con EDTA

Estabilidad [7]:	2 días	de	20 a 25 °C
	7 días	de	4 a 8 °C
	4 semanas (en la oscuridad)	a	- 20 °C

Desechar las muestras contaminadas!

Procedimento del Ensayo

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Paso Óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Medición	Contra blanco de reactivo

Inicio con sustrato

	Blanco	Muestra
Muestra / Calibrador	-	50 µL
Agua destilada	50 µL	-
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL
Mezclar, incubar durante aprox. 3 min., luego añadir:		
Reactivo 2	250 µL	250 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 2 min. y empezar a cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.		

ΔA/min = ΔA/min Muestra/Calibrador

Inicio con muestra

	Blanco	Muestra
Muestra / Calibrador		40 µL
Agua destilada.	40 µL	
Monoreactivo	1000 µL	1000 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 3 min. y empezar a cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.		

ΔA/min = ΔA/min Muestra/Calibrador

*Fluid Stable = liquido estable

Cálculo

Con factor

De las lecturas de absorbancia calcular ΔA/min. y multiplicar por el factor correspondiente de la tabla de más abajo:

ΔA/min. x factor = Actividad CK [U /L]

340 nm	4127
334 nm	4207
365 nm	7429

Con Calibrador

$$CK\ [U/L] = \frac{\Delta A / min\ Muestra}{\Delta A / min\ Calibrador} \times Conc.\ Calibrador\ [U/L]$$

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda el uso del calibrador DiaSys TruCal U. Para el control interno de calidad los controles DiaSys TruLab N y P deberán probarse con cada lote de muestras.

	Cat. No.	Presentación
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características de Desempeño

Rango de Medición

La prueba ha sido desarrollada para determinar las actividades de CK que corresponden a un máximo Δ A/min. de 0.25 a 340 y 334 nm o 0.14 a 365 nm,
Si estos valores son excedidos la muestra debe ser diluida 1 + 10 con solución de NaCl (9 g/L) y los resultados multiplicados por 11.

Especificidad / Interferencias

No se observó ninguna interferencia con el ácido ascorbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL, hemoglobina hasta 200 mg/dL y lipemia hasta 2,000 mg/dL de triglicéridos.

Sensibilidad /Límite de Detección

El límite bajo de detección es de 1 U/L.

Precisión

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	159	3,18	2,00
Muestra 2	220	1,54	0,70
Muestra 3	508	3,69	0,73

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	49,5	1,05	2,12
Muestra 2	157	1,63	1,04
Muestra 3	228	2,31	1,01

Método de Comparación

Una comparación entre CK NAC FS (y) de DiaSys con el reactivo referencia de la IFCC (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados: y = 0,997 x - 0,249 U/L; r= 0,999.

Una comparación entre CK Total (NAC) de Diasys (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:
y = 1,031 x + 0,059 U/L; r= 1,000

Rango de Referencia [1]

Adultos [3]

Mujeres	< 145 U/L
Hombres	< 171 U/L

Estos valores de referencia garantizan una alta sensibilidad de diagnóstico. La especificidad de diagnóstico que se encuentra reducida, se puede mejorar mediante la determinación adicional de CK-MB.

Infarto de miocardio: Existe una alta probabilidad de daños miocárdicos cuando se cumplen las siguientes tres condiciones [5]:

1. CK (hombres) > 190 U/L (3,12 µkat/L)*
   CK (mujeres) > 167 U/L (2,87 µkat/L)*
2. CK-MB > 24 U/L (0,40 µkat/L)*
3. La actividad CK-MB se encuentra entre el 6% y el 25% de la actividad total CK.

* calculada con un factor de cálculo de temperatura de 2,38 (25 °C → 37 °C)

Si se sospecha de un infarto de miocardio y aún así los valores medidos se encuentran por debajo de los límites, puede que se trate de un infarto reciente. En ese caso, deben repetirse las determinaciones en muestras recientes 4 horas después.

En una población sana los valores de CK varían en función de la edad y de la raza [5,6].

Niños [1]

Sangre (cord.umbil)	175 - 402 U/L
Recién nacidos	468 - 1200 U/L
≤ 5 días	195 - 700 U/L
< 6 meses	41 - 330 U/L
> 6 meses	24 - 229 U/L

Cada laboratorio debería comprobar la transmisibilidad de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia. Para determinar un diagnóstico se deben valorar los resultados de CK junto con el historial médico, los análisis clínicos y los resultados de otros análisis.

Literatura

1. Stein W. Creatine kinase (total activity), creatine kinase isoenzymes and variants. In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft;1998.p.71-80.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. Clin Chem Lab Med 2002;40:635-42.
4. Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. Standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids: Standard method for the determination of creatine kinase activity. J Clin Chem Clin Biochem 1977;15:255-60.
5. Stein W. Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985:36:572-7.
6. Myocardial infarction redefined – a consensus document of the Joint European society of Cardiology / America College of Cardiology Committee fort he redefinition of myocardial Infarction. Eur Heart J 2000;21:1502-13.
7. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 24-5.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Straße 9 65558 Holzheim Alemania