

Reactivo de CK-NAC, vial único IFCC (Creatina quinasa, activada por N-acetilcisteína)

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	: 7 días a 2-8 °C
Intervalo Lineal	: Hasta 1500 U/L
Tipo de muestra	: Suero
Método	: Cinético
Preparación del reactivo	: Añadir un volumen especificado de tampón.

IVD

USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro de la CK (ATP:Creatina N-fosfotransferasa, EC 2.7.3.2) en el suero humano en sistemas tanto manuales como automáticos.

RELEVANCIA CLÍNICA

La creatina quinasa (CK) es una enzima dimérica compuesta por dos tipos de subunidades monoméricas, M (Muscular) y B (Cerebral) que se combinan para formar tres isoenzimas CK distintas: CK-1 (BB), CK-2 (MB) y CK-3 (MM). La principal proporción de la actividad total de la CK se encuentra en los músculos esqueléticos y ésta es predominantemente la isoforma CK-3. Otros tejidos con unos niveles de CK relativamente elevados incluyen el miocardio, del cual aproximadamente el 40% es la isoforma CK-2, el tracto gastrointestinal y el cerebro, en el que predomina la isoforma CK-1. El daño o la enfermedad de cualquiera de estos tejidos tales como una distrofia muscular, un infarto de miocardio y un accidente cerebrovascular agudo tendrá como resultado el aumento de los niveles sanguíneos de la enzima.

METODOLOGÍA^{1,2,3}

El reactivo de CK-NAC, vial único IFCC se basa en los principios del procedimiento recomendado por la IFCC. Las series de reacciones implicadas en el sistema de ensayo son las siguientes:

- 1) CK inactivada \longrightarrow CK reactivada
- 2) Fosfato de creatina + Mg-ADP \xrightarrow{CK} ATP + creatina
- 3) ATP + glucosa \xrightarrow{HK} ADP + G-6-P
- 4) G-6-P + NADPH⁺ $\xrightarrow{G6PDH}$ 6-PG + NADPH + H⁺
- 5) 2ADP $\xrightarrow{AK} //$ AMP + ATP
(Inhibida por P¹P⁵-diAP y AMP)

1. Dado que la CK se inactiva rápidamente en suero, con el fin de asegurar una actividad catalítica completa, resulta necesario reactivar la molécula de CK mediante un compuesto de tipo tiol. Durante la primera etapa, la muestra se incuba con el compuesto de tipo tiol N-acetilcisteína (NAC) que reactiva la molécula de CK mediante la reducción rápida de los compuestos de tipo sulfhidrilo oxidados del sitio activo.
2. En la segunda etapa, el sustrato fosfato de creatina inicia una serie de reacciones catalizadas. En la primera de estas reacciones, la CK cataliza la formación de ATP a partir de fosfato de creatina y ADP.
3. El ATP formado en 2 se utiliza para formar glucosa-6-fosfato en una reacción catalizada por la hexoquinasa.
4. La glucosa-6-fosfato producida en 3 se oxida a 6-fosfogluconato y el NADP se reduce a NADPH en una reacción catalizada por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.
5. El AMP y el P¹P⁵-Di(adenosina-5'-) pentafofosfato (P¹P⁵-diAP) se añaden con el objeto de inhibir la actividad de la adenilato quinasa (mioquinasa).

Abreviaturas:

ADP	= 5'-difosfato de adenosina
ATP	= 5'-trifosfato de adenosina
HK	= Hexoquinasa
G-6-P	= Glucosa-6-fosfato
NADP ⁺	= Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
G-6-PDH	= Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
6-PG	= 6-fosfogluconato
NADPH	= NADP reducido
AMP	= 5'-monofosfato de adenosina
AK	= Adenilato quinasa
P ¹ P ⁵ -diAP	= P ¹ P ⁵ -Di(adenosina-5'-) pentafofosfato

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos

AMP	5,25 mmol/L
NADP	2,2 mmol/L
P ¹ P ⁵ -diAP	10,5 µmol/L

Concentración

AMP	5,25 mmol/L
NADP	2,2 mmol/L
P ¹ P ⁵ -diAP	10,5 µmol/L

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado		Limitación de temperatura
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
LOT	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
REF	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso	REAG A	Reactivo A
REAG A	Reactivo A	REAG B	Reactivo B
			Contiene mercurio

EDTA	2,1 mmol/L
Mg ²⁺	11,6 mmol/L
ADP	2,1 mmol/L
D-Glucosa	21 mmol/L
N-acetil-L-cisteína	21 mmol/L
Hexoquinasa (levadura)	>3000 U/L
G-6-PDH (leuconostoc)	>2000 U/L
Acetato de imidazola	116 mmol/L
Fosfato de creatina	31,5 mmol/L
pH 6,75 ± 0,1 a 20 °C.	

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. Contiene mercurio. Desechar conforme a la legislación local, estatal y federal. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del Reactivo de CK-NAC, vial único IFCC. El envase de este producto contiene caucho natural seco. Tenga precaución al manipular los viales con boca para cápsulas metálicas y los viales de vidrio rotos, dado que los bordes afilados podrían herir al usuario.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituya el Reactivo A con el volumen de tapón, Reactivo B, indicado en la etiqueta del vial. Mezcle suavemente hasta que se disuelva.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

Cuando se almacena refrigerado a 2-8 °C el reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella y de la caja del kit.

Reactivo reconstituido:

Cuando se almacena bien cerrado a 2-8 °C el reactivo es estable durante al menos 7 días.

Indicaciones del deterioro del reactivo:

- Turbidez,
- Absorbancia del reactivo >0,6 a 340 nm (paso de luz de 1 cm), y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS¹

Suero: Use suero no hemolizado.

Plasma: Evite el uso de plasma que contenga heparina, EDTA, citrato o fluoruro.

Almacenamiento: La CK es estable durante 1 día a 4 °C. La estabilidad puede variar algo para el suero individual y depende de la distribución isoenzimática y el estado ácido-base del paciente.

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- se requieren, pipetas para administrar volúmenes medidos con precisión.
- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37 °C) y de medir la absorbancia a 340 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas para muestras.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones de instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	37 °C
Longitud de onda primaria	340 nm (334, 365 nm)
Longitud de onda secundaria	405 nm
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Incremento
Muestra: Relación de reactivo	1 : 20
p.ej. Vol de muestra:	0,05 mL
Vol. de reactivo	1,0 mL
Retraso/retardo	120 segundos

Tiempo de lectura	3 minutos
Límites del blanco de reactivo (340 nm, paso de luz de 1 cm)	Bajo 0,0 UA Alto 0,6 UA
Linealidad (consulte la sección de Linealidad)	Hasta 1500 U/L
Sensibilidad (340 nm, paso de luz de 1 cm)	0,30 ΔmA/min por U/L

CÁLCULOS

En general, el instrumento calcula los resultados de forma automática, como sigue:

Actividad en U/L = ΔAbs/min x Factor

$$\text{Factor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

En la cual:

TV	=	Volumen total de reacción en mL
SV	=	Volumen de la muestra en mL
6,3	=	coeficiente de absorción milimolar del NADH a 340 nm (Véase la nota 4)
P	=	Longitud del paso de la cubeta en cm.

Ejemplo:	ΔAbs/min	=	0,027
	Factor	=	3333
	CK	=	0,027 x 3333 = 90 U/L

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para adaptarse a los diferentes requerimientos del espectrofotómetro.
- Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,45 AU/min, repita el ensayo con suero diluido. No obstante, resulta crítica la fracción volumétrica del suero en el sistema de reacción de CK. Los cambios de la fracción volumétrica, como los que ocurrirán durante la dilución previa de la muestra, no provocan cambios en la velocidad de reacción. Si es necesaria la dilución, se recomiendan 150 mmol/L de NaCl. Con una dilución de 1:2, se puede esperar un aumento aparente del nivel de CK como máximo del 10%.² Alternativamente, para la dilución se puede utilizar una mezcla de suero libre de CK. El suero libre de CK se puede producir calentando suero a 56°C durante dos horas.
- Los resultados válidos dependen de un instrumento calibrado con precisión, de la distribución, y del control de la temperatura.
- El coeficiente de absorción milimolar para el NADH a 334 nm = 6,18 y a 365 nm = 3,40.
- Conversión de unidades: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μkat/L

CALIBRACIÓN

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos cada ocho horas.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, bilirrubina y lipemia en un sistema químico clínico automatizado. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Hemoglobina: Se deben evitar las muestras hemolizadas con el fin de minimizar la interferencia producida por la adenilato quinasa y por otros intermediarios de reacción tales como el ATP y G-6-P.⁴

Bilirrubina: No se observa interferencia debida a bilirrubina hasta 340 μmol/L (20 mg/dL).

Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como

triglicéridos, hasta 2,8 mmol/L (250 mg/dL).

- Young DS⁵ ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS⁶

A 37°C	Hombres	≤200	(3,3 μkat/L)
	Mujeres	≤180	(3,0 μkat/L)
A 30°C	Hombres	≤130	(2,1 μkat/L)
	Mujeres	≤113	(1,9 μkat/L)

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁷

*Resultados calculados utilizando una conversión de temperatura de 0,625 para 30°C. Thermo no recomienda el uso rutinario de factores de conversión de la temperatura.

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo de CK-NAC IFCC vial único en un analizador químico clínico automatizado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó a lo largo de un período de 20 días usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T.⁸

Intra análisis	NIVEL I	NIVEL II :
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	134	393
DD (U/L)	4,3	5,2
CV (%)	3,2	1,3
Entre días	NIVEL I	NIVEL II :
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	134	393
DD (U/L)	5,2	16,3
CV (%)	3,9	4,1

EXACTITUD

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando un reactivo de CK-NAC disponible comercialmente similar como referencia. Se ensayaron las muestras de suero en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de mínimos cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	60
Intervalo de los resultados de las muestras	17 - 749 U/L
Media de los resultados	148 U/L
Media de los resultados del CK-NAC	147 U/L
Pendiente	1,01
Ordenada en el origen	-1,15 U/L
Coefficiente de correlación	0,999

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 1500 U/L.


SENSIBILIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,30 ΔmA/min por U/L.

BIBLIOGRAFÍA

- Horder M., Elser R.C., Gerhardt W., et al. Journal of the IFCC 1989; 1:130-8.
- Strömme JH., Theodorsen L., Hørdér M., et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1976; 36:711-23
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 805.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Third Edition, 1990: 3:120-122
- Bais R, et al. Pathology 1988; 20:367-72.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices NCCLS 1984; NCCLS publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Información de Pedidos

No de Catalogue	REAG A	REAG B
TR14110	20 x 10 mL	1 x 200 mL
TR14115	20 x 20 mL	2 x 200 mL
TR14103	10 x 50 mL	1 x 500 mL
TL14101 (ILab 600)	20 x 20 mL	1 x 400 mL