Determinación cuantitativa de la mioglobina (Mb) IVD

Conservar a 2- 8°C.

PRINCIPIO DEL METODO

La Mb-turbilatex es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de mioglobina en suero y plasma humano.

Las partículas de látex recubiertas con IgG de cabra anti- Mb humana son aglutinadas por la Mb presente en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de Mb de la muestra, y por comparación con un calibrador de Mb de concentración conocida se puede determinar el contenido de Mb en la muestra ensayada.

SIGNIFICADO CLINICO

La mioglobina es una hemo-proteína presente en las células de la musculatura cardiaca y esquelética, que se vierte al torrente circulatorio cuando estas células son dañadas. La determinación de la mioglobina en suero es útil en el diagnóstico de infarto de miocardio, distrofia muscular, miositis y miopatías, así como en el seguimiento y pronóstico de tales enfermedades. 2 ó 3 horas después del inicio del infarto, la Mb aparece a concentraciones elevadas en la sangre periférica, alcanzando valores patológicos algunas horas antes que otros marcadores biológicos.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón glicina 150 mmol/L , pH, 9,0. Azida sódica 0,95 g/L.
Látex (R2)	Partículas de látex cubiertas con IgG de cabra anti-Mb humana, pH, 7,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional	Ref: 1107062 Mb CAL (Calibrador)
Opcional	Ref: 1107063 Mb Control.

CALIBRACION

La sensibilidad del ensayo está estandarizada frente a un Patrón Interno de Mb. No es recomendable utilizar otros calibradores de uso comercial.

PREPARACION

Reactivos: Listo para el uso.

Curva de calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador de Mb en CINA 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de Mb, multiplicar la concentración de Mb del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5
Calibrador (µL)	100	50	25	12.5	--
CINA 9 g/L (µL)	--	50	75	87.5	100
Factor	1	0.5	0,25	0,125	0

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

La congelación de los reactivos podría alterar la funcionalidad del ensayo.

Indicadores de deterioro: Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 570 (560-580nm).

MUESTRAS

Suero fresco o plasma. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de usar. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
2. Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 570 nm (560 – 580)
 - Temperatura: 37°C
 - Paso de luz de la cubeta: 1 cm
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Calibrador /Muestra
CINA 9 g/L (µL)	25	--
R1 Diluyente (µL)	750	750
R2. Látex (µL)	250	250
Calibrador o muestra (µL)	--	25

5. Mezclar y leer la absorbancia frente al blanco inmediatamente (A_1) y a los 5 minutos (A_2) de efectuada la mezcla.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias (A_2-A_1) obtenidas para los distintos calibradores y el blanco.

$$(A_2-A_1)_{\text{calibrador/muestra}} - (A_2-A_1)_{\text{blanco}}$$

y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de Mb de los diferentes calibradores. La concentración de Mb en las muestras se calcula por interpolación de su valor (A_2-A_1)_{muestra} - (A_2-A_1)_{blanco} en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del suero control de Mb Ref: 1107063.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

Hasta 70 ng/mL.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Límite de linealidad:** Hasta 800 ng/mL, en las condiciones descritas del ensayo. Puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado. Muestras de concentraciones superiores deben diluirse 1/5 en CINA 9 g/L y ensayarse de nuevo. La linealidad del ensayo depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.
2. **Límite de detección:** Valores por debajo de 10 ng/mL dan lugar a resultados poco reproducibles.
3. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 24.000 ng/mL.
4. **Sensibilidad:** Δ 1,0 mA. ng/mL.
5. **Precisión:**

Intra-ensayo	(n = 10)		
Media (ng/mL)	48,6	86,2	323,5
SD	2,3	3,3	3,8
CV	4,63	3,87	1,17

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método TIA (x). 55 muestras se ensayaron con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,999 y la ecuación de la recta de regresión y = 0.980x - 2.105.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (60 mg/dL), hemoglobina (500 mg/dL) y triglicéridos (1500 mg/dL), factores reumatoides (1000 UI/mL), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁴.

NOTAS

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Nemeth PM et al. J Histochem Cytochem 1984; 32: 1211-1216.
2. Isakov A et al. Arch Intern Med 1988; 148: 1762-1765.
3. Kallner A et al. Scand J Clin Invest 1989; 49: 633 – 639.
4. Singer JM et al. Amer J Med 1956; 21: 888
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRESENTACION

Ref: 1107060

Cont. R1 Diluyente: 1 x 24 mL
R2 Látex: 1 x 8 mL