

REACTIVO PARA CREATINA KINASA**USO:**

Para la determinación cuantitativa de la Creatina Kinasa en suero.

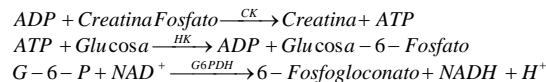
SIGNIFICANCIA CLINICA:

Creatina-Kinasa (CK) es primeramente encontrada en musculo esquelético, musculo cardiaco y tejido cerebral. El daño en cualquiera de estos tejidos pueden resultar niveles alterados de CK en suero. El daño de musculo cardiaco seguido de infarto al miocardio usualmente genera un incremento de 7-12 veces de el limite alto dentro de 10 a 30 horas de el infarto. Fracciones elevadas de CK son también notadas en hypotiroidismo, varios tipos de distrofia muscular, miyositis viral y tipos similares de enfermedades del musculo esquelético. La determinación en suero de CK es usada como una ayuda para el diagnóstico de infarto al miocardio y varios tipos de enfermedades musculares.

HISTORIA DEL METODO

La enzima Creatina Kinasa fue primero descrita por Lohaman en 1935. En 1955 Oliver presentó un método de determinación de CK en la formación de ATP.

Un método modificado fue presentado por Nelson y Lidvingson. En 1963 y 1967 Rosalki le agregó sulfhidrilo y AMP, para asegurar una actividad de la CK máxima e inhibir la actividad de la Adenikinasa. Las condiciones óptimas para medir CK se publicaron en 1976 por Szasz, así como por el comité Escandinavo de Enzimas. El procedimiento descrito fue modificado en 1979 para incluir EDTA. El reactivo presente es una modificación de la última revisión.

PRINCIPIO:

La CK cataliza la fosforilación reversible del ADP en presencia de Creatinafosfato para formar ATP y Creatina. La enzima auxiliar hexoquinasa (HK) cataliza la fosforilación de la glucosa por el ATP formado, para producir ADP y Glucosa-6-Fosfato (G-6-P) se oxida a 6 fosfogluconato con la producción concomitante de NADH. La formación de NADH, medida a 340nm, es directamente proporcional a la actividad de CK en suero.

REACTIVOS:

La concentración se refiere al reactivo reconstituido.

Creatina fosfato 30 mM, ADP 2mM, AMP 5mM, NAD 2mM, NAC 20mM, Hexoquinasa (microbial) 2500 U/L, G6PDH (microbial) 2000 U/L, D-Glucosa 20 mM, iones de Magnesio 10mM, EDTA 2.0mM Diadenosina Pentaosfato 10uM, Buffer 100mM pH 6.7 +/-0.1, estabilizadores no reactivos.

PRECAUCIONES:

1. Para diagnóstico in vitro
2. El reactivo reconstituido puede ser irritante para la piel, lave con agua abundante.

PREPARACION DEL REACTIVO:

Reconstituya el volumen de agua destilada indicado en la etiqueta. Agite para disolver.

DETERIORO DEL REACTIVO: NO SE USE SI:

1. El reactivo se humedece
2. El reactivo reconstituido tiene una absorción mayor a 0.700 a 340nm contra agua.

COLECCION Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA:

1. Se puede utilizar suero o plasma (Heparina o EDTA)
2. Las celulas rojas tienen muy poco CK por lo que es aceptable una hemolisis leve.
3. La CK es estable por 48 hrs. a temperatura ambiente (18-25°C) y 7 dias refrigerada (2-8°C) la muestra se puede congelar por un mes para protegerla de la evaporación.
4. El ejercicio extenuante puede ocasionar niveles de CK muy elevados.

INTERFERENCIAS:

Algunas drogas y medicamentos pueden afectar la actividad del CK.

MATERIALES PROPORCIONADOS:

Reactivo de CK.

MATERIALES NO PROPORCIONADOS:

1. Tubos de ensayo y gradilla.
2. Instrumentos de pipeteo precisos.
3. Espectrofotómetro con habilidad de 340 nm.
4. Bloc térmico (37°C ó baño María).
5. Cronómetro o reloj.

PROCEDIMIENTO MANUAL:

1. Reconstituya el reactivo de acuerdo a las instrucciones.
2. Pipetee 1.0ml de reactivo en los tubos apropiados e incube a 37°C por 5 minutos.

3. Calibre en cero el espectrofotómetro con agua a 340 nm.
4. Transfiera 0.025ml. (25ul) de la muestra en el reactivo e incube a 37°C por 2 minutos.
5. Después de dos minutos, lea y anote la absorbancia, regrese el tubo a 37°C. Repita las lecturas cada minuto en los proximos dos minutos.
6. Calcule la diferencia de absorción por minuto (ABS/MIN).
7. La (ABS/MIN) multiplicada por el factor 6592 da los resultados en IU/L.

NOTAS DEL PROCESO:

1. Muestras con valores sobre 1500 IU/L deben diluirse 1:1 con solución salina, procesa de nuevo y el resultado multipliquelo por dos.
2. Si el espectrofotómetro que está utilizando está equipado con cubeta térmica, la mezcla de reacción deberá dejarse en al cubeta mientras se toman las lecturas.

CALIBRACION:

Este procedimiento está estandarizado en base a la absorción milimolar del NADH tomada como 6.22 a 340nm bajo las condiciones descritas.

CONTROL DE CALIDAD:

El suero control normal y anormal se utiliza para monitorear la validez de la reacción. Los valores deben ser los aceptables para este método y temperatura.

CALCULOS:

Una unidad internacional (IU/L), se define como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones específicas.

$$IU / I = \frac{\Delta ABS / MIN \times 1.025 \times 1000}{1 \times 6.22 \times .025} = \Delta ABS / MIN \times 6592$$

donde:

- Δ ABS/MIN = Absorción por minuto promedio.
- 1.025 = Volumen de la reacción total.
- 1000 = Conversión de IU/ml a IU/L
- 1 = Trayecto de la luz en cm.
- 6.22 = Absorción milimolar del NADH
- .025 = Volumen de muestra en ml.

NOTA:

Si alguno de los parámetros varía, utilice la fórmula y cambie el factor. Multiplique las IU/L por 16.67 para convertir a unidades SI.

LIMITACIONES:

El procedimiento presente mide la CK total sin tomar en cuenta la fuente.

VALORES ESPERADOS: Los siguientes valores están basados en técnicas a 37°C.

Hombres: Hasta 160 UI/L.

Mujeres: Hasta 130 UI/L.

Recien Nacidos: 2 a 3 veces los valores de adultos.

DESEMPEÑO:

Linealidad: 1500(IU/L)

Comparación: Coeficiente de correlación de 0.999 con una ecuación regresiva de $y=1.01x-13.6$

Precisión:

Entre pruebas		
Conc.	D.E.	C.V.%
141	1.9	1.3
420	5.4	1.3
Prueba a prueba		
Conc.	D.E.	C.V.%
142	2.7	1.9
426	5.9	1.4

REFERENCIAS:

1. Lohmann J I, Biochem Z,271:264 (1934)
 2. Lohmann, K, Biochem Z,281:271 (1935)
 3. Oliver,I,T,Biochem,J,61:116 (1955)
 4. Nielson,L, Ludvigsen,B,J Lab. Clin., Med, 62:159 (1963)
 5. Rosalki,S,B,J,Lab;Clin; Med. 69:696 (1967)
 6. Szasz, G, et al, Clin, Chem. 22:650 (1976)
 7. The Comitee on Enzymes of the Scandinavian Society for clinical Chemysry and Clinical Physiology Scand, J. Clin Lab Invest 39:1 (1979).
 8. Engle,W,K,Meitzer,H,Science.168:23 (1970)
 9. Tietz,N.W. Fundamentals of clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Co. pp. 682-689 (1976)
 10. Young D.S., et al, Clin Chem 22:1D (1976)
 11. Ziegenhom,J,etal,Clin, Chem, 22:151 (1976)
 12. McComb,R.B.,et.al,Clin,Chen,22:141 (1976)
- REV. 9/98



DISTRIBUOTOR:
MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.
 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14
 San Diego CA. 92154
 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297
 www.mymssupply.com
 email: mail@mymssupply.com