

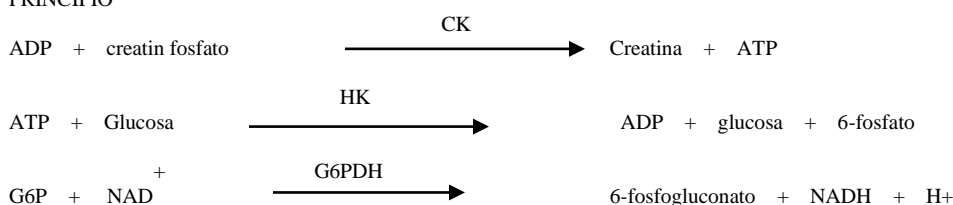
IMPORTANCIA CLINICA

La creatina kinasa se encuentra fundamentalmente en músculo esquelético, músculo cardíaco y tejido cerebral. El daño de alguno de estos tejidos puede resultar en niveles incrementados de la actividad de CK en suero. Un daño al músculo cardíaco seguido por un infarto al miocardio usualmente resulta en un incremento de 7-12 veces arriba del límite normal entre las 18 y las 30 horas después del infarto. Se nota también una actividad elevada de CK en hipotiroidismo, varios tipos de distrofia muscular, miositis viral y tipos similares de enfermedades del músculo esquelético. La determinación de la actividad de la CK en suero se usa para ayudar en el diagnóstico de infarto al miocardio y varios tipos de enfermedades musculares.

HISTORIA DEL METODO

El primer procedimiento para determinar CK, basado en la formación de ATP, fue presentado por Oliver en 1955. En 1963 Nielson y Ludvigsen describieron un método modificado. En 1967, junto con Rosalky añadieron un compuesto sulfhidrilo y AMP para asegurar el máximo de la actividad de CK e inhibir la actividad de la adenilato cinasa. En 1976 Szasz optimizó las condiciones para medir CK. Este procedimiento fue modificado en 1979 al introducir EDTA. El presente reactivo es una modificación a esta última revisión.

PRINCIPIO



La CK cataliza la fosforilación reversible de ADP en presencia de creatin fosfato para formar ATP y creatina. La enzima auxiliar hexokinasa cataliza la fosforilación de la glucosa por el ATP formado, para producir ADP y glucosa-6-fosfato. La G6P es oxidada a 6-fosfogluconato con la producción concomitante de NADH. La razón de formación de NADH medida a 340 nm, es directamente proporcional a la actividad de CK en suero.

REACTIVOS

Después de combinar R1 y R2 el reactivo contiene: creatin fosfato 30 mM; ADP 2 mM; AMP 5 mM; NAD 2mM; NAC 20 mM; Hexokinasa (microbial) 2500 U/L; G6PDH (microbial) 2000 U/L; D-Glucosa 20 mM; iones Magnesio 10 mM; EDTA 2 mM; Diadenosina pentafofato 10 mM; Buffer 100 mM; Estabilizadores no reactivos; azida de sodio 0.05 % como preservativo.

El reactivo de trabajo se prepara mezclando 5 partes de R1 con una parte de R2.

Los reactivos por separado son estables hasta su fecha de expiración si se guardan a 2-8 °C.

El reactivo de trabajo es estable 24 horas a temperatura ambiente y 14 días a 2-8 °C.

Los reactivos no deben usarse si :

Hay contaminación bacteriana evidente (turbidez).

El reactivo reconstituido tiene una absorbancia mayor que 0.700 a 340 nm.

INTERFERENCIAS

Ciertas drogas y medicamentos pueden afectar la actividad de CK.

Niveles elevados de bilirrubina (200 mg/dL) y hemoglobina (500 mg/dL) presentan efectos insignificantes en este ensayo.

MATERIAL

Reactivos R1 Y R2 de CK

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO

Pipetas automatizadas

Cronómetro

Tubos de ensayo

Espectrofotómetro con capacidad de leer a 340 nm

Bloque térmico

PROCEDIMIENTO (AUTOMATIZADO)

Ver las instrucciones de aplicación específicas del instrumento.

1. Prepare el reactivo de trabajo de trabajo según el instructivo.
2. Pipete 1 ml del reactivo de trabajo a cada tubo. Precalentar 5 minutos a 37 °C.
3. Ajuste a cero el espectrofotómetro con blanco de reactivo a 340 nm.

4. Agregue 25ul de muestra al reactivo. Mezcle e incube a 37 °C por 2 minutos.
5. después de 2 minutos leer y anotar la absorbancia. Regrese el tubo a 37 °C. Repita las lecturas cada minuto durante los próximos 2 minutos.
6. Calcular la diferencia d absorbancia por minuto (Δ Abs). Multiplicar el resultado por el factor que es 6592. Los resultados se dan en U/L.

NOTAS

Muestras con valores arriba de 1500 U/L deben ser diluidas 1.1 con solución salina reensayados y los resultados se multiplican por 2. El procedimiento mide niveles de CK total, sin importar su origen.

CALIBRACIÓN

El procedimiento está estandarizado por la media de la absortividad de NADH tomada como 6.22 a 340 nm bajo las condiciones de prueba descritas.

CALCULOS

Una unidad internacional (UI/L) está definida como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones específicas.

$$(UI/L) = \frac{(A2-A1) * 1.025 * 1000}{6.22 * 0.025 * 1.0} = \Delta \text{ Abs/min} * 6592$$

donde :

(A1 – A2) =cambio de absorbancia por minuto

1000 = conversión UI/mL a UI/L

1.025 = volumen total de reacción (mL)

6.22= absortividad molar de NADH

0.025 = volumen de muestra (mL)

1.0 = paso de luz en cm

CONTROL DE CALIDAD

Se debe correr rutinariamente sueros control normal y anormal con concentraciones conocidas para monitorear la validez de la reacción. Estos controles se deben correr por lo menos cada vez que se vayan a procesar determinaciones de CK. Se recomienda que cada laboratorio tenga su propia frecuencia de determinación de control.

VALORES ESPERADOS

Hombres: hasta 160UI /L (37°C)

Mujeres: hasta 130 UI /L(37°C)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LINEARIDAD

0-1500 UI /L

FABRICADO POR:

POINTE SCIENTIFIC, INC.
E.E.U.U.