

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania aktywności kinazy kreatynowej w surowicy przy użyciu analizatorów Yumizen C230 i Yumizen C240. **Rx Only.**

Streszczenie i zasada metody

Stężenia kinazy kreatyniny (CK) w surowicy okazały się przydatne w ocenie chorób serca i mięśni szkieletowych, w tym zawału mięśnia sercowego i dystrofii mięśniowej¹. Oznaczanie izoenzymów kinazy kreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej zapewnia ostateczne rozpoznanie ostrego zawału mięśnia sercowego².

Przedstawiona procedura kinetyczna jest modyfikacją Szasz³ techniki Rosalki⁴, która optymalizuje reakcję poprzez reaktywację aktywności CK za pomocą N-aktylo-L-cysteiny (NAC).

CK specyficznie katalizuje transfosforylację ADP do ATP. Poprzez serię sprężonych reakcji enzymatycznych NADPH jest wytwarzany z szybkością wprost proporcjonalną do aktywności CK. Metoda oznacza wzrost absorbancji NADPH na minutę przy 340 nm.

Odczynniki

CK R1 (bufor) zawiera: Bufor imidazolowy (pH 6,7) 100,0 mmol/L; NADP 2,0 mmol/L; HK (drożdże piekarnicze) 2,5 KU/L; glukoza 20,0 mmol/L; octan magnezu 10,0 mmol/L; EDTA 2,0 mmol/L i N-acetylocysteina (NAC) 20,0 mmol/L.

CK R2 (odczynnik enzymatyczny) zawiera: Bufor imidazolowy (pH 6,7) 100,0 mmol/L; ADP 2,0 mmol/L; AMP 5,0 mmol/L; pentafosforan diadenozyny 10,0 mmol/L; Fosforan kreatyny 30,0 mmol/L; G₆PDH (drożdże piekarskie) 1,5 KU/L i EDTA 2,0 mmol/L.

Przygotowanie odczynnika

Odczynniki dostarczane są w postaci gotowych do użycia płynów.

Przechowywanie odczynnika

- Odczynniki powinny być przezroczyste i bezbarwne. Wyrzucić, jeśli wygląda na mętny lub zawiera cząstki stałe.
- Przechowywać R1 i R2 w temperaturze 2-8°C, chronić od światła. Jeśli są przechowywane zgodnie z zaleceniami, odczynniki zachowują stabilność do daty ważności.

Środki ostrożności

- Ten odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.
- Należy przestrzegać zwykłych środków ostrożności podczas obchodzenia się z odczynnikami laboratoryjnymi.
- Odczynniki zawierają azcydek sodu, który może być toksyczny w przypadku połknięcia. Azcydek sodu może również reagować z ołowianymi i miedzianymi instalacjami wodociągowymi, tworząc wysoce wybuchowe azcydki metali. Aktualne informacje o ryzyku, niebezpieczeństwie lub bezpieczeństwie znajdują się w Karcie Charakterystyki Substancji Niebezpiecznej.

Pobieranie i przechowywanie próbek

- Próbką z wyboru jest przezroczysta niehemolizowana surowica. Nie są wymagane żadne specjalne dodatki ani konserwanty.
- Jeśli to możliwe, próbki należy oddzielić i poddać analizie w dniu zbioru i przechowywany w zamkniętych próbkach.
- Podobno aktywność CK w surowicy jest stabilna przez trzy dni w temperaturze 2-8°C. Dodatek środków sulfhydrylowych zachowuje aktywność CK podczas dłuższego przechowywania.^{5,6} Jednak niektóre surowice kontrolne wykazują znaczny spadek aktywności CK zaledwie kilka godzin po rekonstytucji.

Interferencje

- Wstrzyknięcia domięśniowe i intensywne ćwiczenia fizyczne mogą zwiększać CK w surowicy.
- Chlorek i siarczan hamują aktywność CK.

3. Poziomy bilirubiny do 40 mg/dl i poziomy trójglicerydów do 2000 mg/dl nie wykazują zakłóceń w tym teście.⁹
4. Young i in. dokonali przeglądu wpływu leku na poziomy CK w surowicy.⁷

Materiały zapewnione

Odczynniki CK R1 i R2.

Materiały wymagane ale niedostarczane

1. Analizator Yumizen C230 / Yumizen C240
2. Instrukcja obsługi Yumizen C230 / Yumizen C240
3. Kontrola chemiczna, numer katalogowy C7592-100

Parametry testu

Test:	CK	Nazwa chem:	Creatine Kinase
Chemistry No.:	211	Wydruk:	CK
Typ reakcji	Kinetyczna	Kierunek reakcji:	Rosnąca Dł.
Dł. Fali I:	340 nm	Fali II	
Miejsca dziesiętne:	0	Typ próbki:	Surowica
Próba ślepa:		Cykl reakcji:	3 11
Jednostka:	U/L	Cykl inkubacji:	3

	Obj. próbki	Aspiracja	Rozcieńczalnik	odczynnika.	Rozcieńczalnik
Prawidłowa:	5	uL	uL	R1: 180	uL
Zmniejszona:	5	uL	20 uL	180 uL	R2: 45 uL
Zwiększona:		uL	uL	uL	uL

Zakres liniowości (Prawidłowy);
Zakres liniowości (Zmniejszony);
Zakres liniowości (Zwiększony):

Abs. R1/próba ślepa:	- 40000	40000
Próba ślepa:	- 40000	40000
Chemia bliźniacza:		

Limit liniowości:
Zużycie substratu:
Mieszana abs.
próby ślepej: Stabilność - 40000 40000
na pokładzie: Limit
alarmu odczynnika: dni 10

Efekt Prozone:

Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Użyj wyniku jakościowego:

Zakres: Flagi:

Przesunięcie i nachylenie:

Przesunięcie	Nachylenie	Jednostka
1	0	U/L

Przygotowanie:

Objętość próbki: uL Objętość odczynnika: uL

Zakres referencyjny:

Typ próbki: Pleć: Zakres dla wieku: Zakres ref.: Wartości krytyczne: Jednostka:

Parametry kalibracji

Chem: CK
Ustawienia kalibracji
Model mat: K Factor
Factor: 6158.000 Powtórzenia: 2
Akceptowalne limity

Ważność kalibracji: godz.
Różnica nachylenia: SD
Czułość: Powtarzalność:
Współczynnik determinacji:
Automatyczna kalibracja

Po upływie ważności kalib.

Kalibrator	Stężenie	Poz	Nr serii
Woda	0.0	W	

* Zdefiniowane przez użytkownika

Pointe Creatine Kinase Reagent Set

Kalibracja

Aktywność CK jest oparta na „mikromolarnym współczynniku ekstynkcji” NADP przy 340 nm (patrz rozdział „Obliczenia”). Podczas kalibracji analizatora należy postępować zgodnie z wytycznymi producenta przyrządu dotyczącymi kalibracji. Oznaczanie zawartości CK w surowicy kontrolnej ze znanymi wartościami CK może być wykorzystane do upewnienia się, że kalibracja urządzenia została przeprowadzona prawidłowo.

Obliczenia

Wartości są wyprowadzane na podstawie „mikromolowego współczynnika ekstynkcji absorpcji” NADP przy 340 nm (0,00622). Jednostka na liter (U/L) aktywności CK to ilość enzymu, która utlenia jeden $\mu\text{mol/l}$ NADP na minutę.

$$\text{U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0.00622} \times \frac{1.05}{0.05} \times \frac{\text{Objętość}}{\text{Objętość próbki}}$$

$$\text{U/L} = \Delta A/\text{Min} \times 3376$$

Ograniczenia

Jeśli Abs./min jest większy niż 0,345, rozcieńczyć 1 część próbki 9 częściami soli fizjologicznej i ponownie wykonać oznaczenie. Wynik należy pomnożyć przez 10. Przy tej procedurze nie określono wartości CK u noworodków.

Kontrola jakości

Ważność reakcji należy monitorować, stosując surowice kontrolne ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami kinazy kreatynowej. Warunki te powinny być przeprowadzane co najmniej na każdej zmianie roboczej, podczas której wykonywane są oznaczenia kinazy kreatynowej. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli.

Wartości oczekiwane⁸

Normalny zakres: Mężczyźni: 38-174 U/L (37°C)
 Kobiety: 26-140 U/L (37°C)

Zakres powinien służyć jedynie jako wskazówka. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres oczekiwanych wartości, ponieważ istnieją różnice między przyrządami, laboratoriami i lokalnymi populacjami.

Charakterystyka⁹

Porównanie: Grupa 77 surowic o aktywności CK w zakresie od 3 do 700 U/L została przebadana opisaną metodą CK i podobnym dostępnym na rynku odczynnikami CK. Porównanie wyników dało współczynnik korelacji 0,999, a równanie regresji $y = 1,027x - 0,65$. (Badania porównawcze przeprowadzono zgodnie z tymczasowymi wytycznymi NCCLS, EP9-T).

Precyzja: Precyzja w ramach serii została ustalona na podstawie 20 testów na trzech różnych poziomach komercyjnych kontroli. Wartości całkowitej precyzji uzyskano przez oznaczanie 3 komercyjnych kontroli przez 5 kolejnych dni.

W serii	Serum 1	Serum 2	Serum 3
Średnia CK (U/L)	159	220	508
Standardowe odchylenie (U/L)	3.2	1.5	3.7
C.V. (%)	2.0	0.7	0.7
Pełna precyzja	Serum 1	Serum 2	Serum 3
Średnia CK (U/L)	50	157	228
Standardowe odchylenie (U/L)	1.1	1.6	2.3
C.V. (%)	2.1	1.0	1.0

Badania precyzji przeprowadzono zgodnie z tymczasowymi wytycznymi NCCLS, EP5-T.

Liniowość: Liniowa od 1 do 1200 U/L w temperaturze 37°C.⁸ Wykonano zgodnie z wytycznymi NCCLS EP6-P.

Czułość: W oparciu o rozdzielczość instrumentu $A = 0,001$, przedstawiona metoda wykazuje czułość równą 1,0 U/L.

Piśmiennictwo

- Kachmar JF., Moss DW., In Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed. NW Tietz, Editor. WB Saunders, Philadelphia, 1976, p 682.
- Row CR et al., J Lab Clin. Med., 80:557, 1972.
- Szasz G., Proceedings of the Second International Symposium on Clinical Enzymology, Chicago, October 1975.
- Rosalki S.B., J Lab Clin. Chem., 23:646, 1977.
- Morin LG, Clin. Chem., 23:646, 1977.
- Nealon DA, Henderson AR., Clin. Chem., 23:646, 1977.
- Young DS et al., Clin. Chem., 21: 286D, 1975 (Special Issue).
- Tietz, Norbert W., Clinical Guide To Laboratory Tests, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA., (1995), p180.
- Manufacturer's Laboratory Data

Symbole

Data przydatności (RRRR-MM-DD)	Nr LOT i kod partii
Numer katalogowy	Producent
Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	Rx Only: Wyłącznie do profesjonalnego użytku
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europę

12-C7522-100	Wyprodukowano przez HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188		
--------------	---	--	--

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BELGIUM
Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.