

Liquick Cor-CK



ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ КРЕАТИНОВОЙ КИНАЗЫ

Название набора	Объем	Номер кат.
Liquick Cor-CK 500	3 x 500 мл	1-319
Liquick Cor-CK "bulk"	1 x 5000 мл	1-288

ВВЕДЕНИЕ

Креатиновая киназа (СК) катализирует перенесение фосфорной группы между фосфатом креатина и аденозиндифосфатом (ADP). Продуктом этой реакции является аденозинтрифосфат (АТР) – источник энергии в клетке. СК является димером, состоящим из двух разных субъединиц, называемых М и В. Три изоэнзима, образованные из этих субъединиц находятся в мозгу и гладких мышцах (ВВ), скелетных мышцах (ММ), сердечной мышце (ММ и МВ). Повышенный уровень СК обычно бывает вызван повреждением мышц, инфарктом миокарда либо легочной запастью.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Оптимизированный кинетический метод основан на рекомендациях Международной Федерации Клинической Химии (IFCC).

фосфат креатина + ADP $\xrightarrow{СК}$ креатин + АТР

АТР + Д-глюкоза $\xrightarrow{НК}$ ADP + Д-глюкоза-6-фосфат

Д-глюкоза-6-фосфат + NADP $\xrightarrow{G6P-DH}$ 6-фосфоглюконат + NADPH + H⁺

Скорость образования NADPH измеряется как изменение коэффициента поглощения при длине волны 340 нм и является прямо пропорциональна активности креатиновой киназы.

РЕАКТИВЫ

Упаковка

	Liquick Cor-CK 500	Liquick Cor-CK "bulk"
1-СК	3 x 400 мл	1 x 4000 мл
2-СК	1 x 300 мл	2 x 500 мл

Реактивы, хранящиеся при температуре 2-8°C сохраняют свою стабильность до даты срока годности, указанной на упаковке. Реагенты на борту аппарата при температуре 2-10°C стабильны 8 недель. Хранить от света и загрязнений!

Приготовление и прочность рабочего раствора

Определение можно выполнить используя отдельные реактивы 1-СК и 2-СК либо рабочий реактив. Для его приготовления необходимо осторожно смешать реактив 1-СК и 2-СК в отношении 4+1. Избегать образования пены!

Стойкость рабочего раствора: 3 недели при 2-8°C
5 дней при 15-25°C

Хранить от света и загрязнений!

Содержание составных частей рабочего реактива

имидазол	79 ммоль/л
Д-глюкоза	20 ммоль/л
ацетат магния	8 ммоль/л
EDTA	2 ммоль/л
ADP	1,6 ммоль/л
AMP	4 ммоль/л
пентафосфат диаденозина	12 мкмоль/л
N-ацетилицистеин	16 ммоль/л
фосфат креатина	30 ммоль/л
NADP	1,6 ммоль/л
гексокиназа (НК)	> 25 мккат/л
дегидрогеназа глюкозо-6-фосфат (G6P-DH)	> 15 мккат/л

Предупреждения и примечания

- Использовать только для диагностических исследований in vitro.
- Реактивы консервированы азидом натрия (0,09%). Избегать контакта растворов с кожей и слизистой.
- Рекомендуется выполнять определение на приборе со шкалой раздельности 0,0001 А.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- автоматический анализатор или фотометр со шкалой 0,0001А, позволяющий отчитывать результаты при длине волны 340 нм ;
- термостат на 37°C;
- общее лабораторное оборудование;

ПРОБЫ

Сыворотка или плазма крови, взятой при добавлении гепарина либо EDTA без следов гемолиза.

В случае использования плазмы в роли антикоагулянта используется соль литиевая, натриевая либо амониевая гепарина или EDTA!

Активность СК не стабильна и падает во время хранения. Пробы необходимо хранить от света и воздуха. Пробу можно хранить 4-8 часов при температуре 15-25°C либо 1-2 дня при 2-8°C, либо месяц при -20°C. Тем не менее рекомендуется определять активность фермента в свежо взятых пробах.

ПРОЦЕДУРА

Набор предназначен как для мануального определения (методы Sample Start, Reagent Start) так и для определений при помощи автоматических анализаторов. Программы для анализаторов предоставляем на желание клиентов.

Определение мануальное

длина волны	340 нм
температура	37°C
кювета	1 см

Метод Sample Start

В кювету поместить:

	исследуемый образец (ИО)	калибратор (К)
рабочий реактив	1000 мкл	1000 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

калибратор	-	25 мкл
исследуемый материал	25 мкл	-

Тщательно перемешать, инкубировать при температуре определения. По истечении 1 минуты отчитать коэффициент поглощения относительно воздуха или воды. Повторить измерения по следующим 1, 2, и 3 минутам. Рассчитать среднее изменение коэффициента поглощения за минуту ($\Delta A/\text{мин.}$).

Метод Reagent Start

Определения можно выполнить используя отдельные реактивы 1-СК и 2-СК.

В кювету поместить:

	исследуемый образец (ИО)	калибратор (К)
1-СК	800 мкл	800 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

калибратор	-	25 мкл
исследуемый материал	25 мкл	-

Тщательно перемешать, инкубировать в течение ок 3 минут.

Затем добавить:

2-СК	200 мкл	200 мкл
------	---------	---------

Тщательно перемешать, инкубировать в температуре определения. По истечении 1 минуты отчитать коэффициент поглощения относительно воздуха либо воды. Повторить измерения по истечении очередных 1, 2 и 3 минут. Посчитать среднее изменение коэффициента поглощения за минуту ($\Delta A/\text{мин.}$).

Расчёт результатов

активность СК (Ед/л) = $\Delta A/\text{мин.}(\text{ИО}) / \Delta A/\text{мин.}(\text{К}) \times \text{активность калибратора}$

РЕФЕРЕНСНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

сыворотка / плазма	37°C
женщины	25 - 175 Ед/л
мужчины	25 - 200 Ед/л

Рекомендуется для каждой лаборатории разработка собственных норм, характеристических для локальной популяции.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется присоединение для каждой серии контрольных определений сывороток CORMAY SERUM HN (номер кат. 5-172) и CORMAY SERUM HP (номер кат. 5-173).

Для калибровки автоматических анализаторов рекомендуется использовать CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (номер кат. 5-174; 5-176) либо LEVEL 2 (номер кат. 5-175; 5-177).

Обновление калибровочной кривой производится при каждой серии определений.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОПРЕДЕЛЕНИЙ

Ниже указанные результаты получены при использовании автоматического анализатора Prestige 24i. В случае проведения анализов на другом анализаторе либо мануального измерения полученные результаты могут отличаться.

- **Чувствительность:** 6,5 Ед/л (0,11 мккат/л).
- **Линейность:** до 1000 Ед/л (16,7 мккат/л).
- **Специфичность / Интерференция**
Гемоглобин до 3,75 г/дл, аскорбиновая кислота до 62 мг/л, билирубин до 20 мг/дл и триглицериды до 500 мг/дл не оказывают влияния на результаты измерений.

- **Точность**

Повторяемость (run to run) n=20	Средняя [Ед/л]	СКО [Ед/л]	КВ [%]
уровень 1	199,16	0,98	0,49
уровень 2	457,07	2,31	0,51

Воспроизводимость (day to day) n = 80	Средняя [Ед/л]	СКО [Ед/л]	КВ [%]
уровень 1	195,27	5,39	2,76
уровень 2	462,92	15,41	3,33

- **Сравнение метода**

Сравнение величины СК из образцов полученных на Prestige 24i (y) и на COBAS INTEGRA 400 (x) с использованием 26 образцов дало следующие результаты:

$y = 0,9494 x + 12,72$ Ед/л;

$R = 0,9981$ (R – коэффициент корреляции)

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Поступать согласно местным требованиям.

ЛИТЕРАТУРА

1. DGKC: J. Clin. Chem. Clin. Biochem.: 15, 249-254 (1977).
2. The Committee on Enzymes of The Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Phys.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 36, 1-5 (1979).
3. Lott J.A., Stang J.M.: Clin. Chem. 26/9, 1241-1250 (1980).
4. Commission Enzymologie, Comité de Standardisation, Société Française de Biologie Clinique: Ann. Biol. Clin. 40, 138-149 (1981).
5. Tietz N.W., ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 806-6 (1995).
6. Burtis C.A., Ashwood E.R., ed. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: Moss D. W., Henderson A. R., 652 (1999).

Дата издания: 07. 2007.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

PZ CORMAY S.A.
ul. Wiosenna 22,
05-092 Łomianki, POLAND
tel.: +48 (0) 22 751 79 10
fax: +48 (0) 22 751 79 14
<http://www.pzcormay.pl>

07/07/07/07