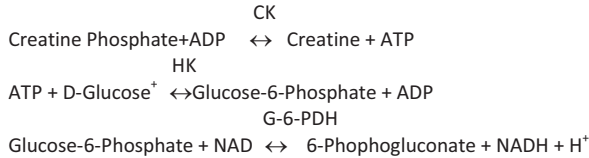


**CREATINE KINASE (CK-NAC)
КРЕАТИН КИНАЗА
UV-КИНЕТИЧЕН МЕТОД****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА КРЕАТИН КИНАЗА В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Скоростта на образуване на NADH при 340 nm е право пропорционална на активността на CK в серума.

РЕАГЕНТИ

При разтваряне според инструкциите на опаковката реагентът съдържа:

| | |
|---|---------|
| D-Glucose | 20 mM |
| Magnesium ⁺⁺ | 10mM |
| Adenosine-5'-Monophosphate (AMP) | 50mM |
| N-Acetylcysteine (NAC) | 20mM |
| Creatine Phosphate | 30mM |
| Adenosine-5'-Dinophosphate (ADP) | 2mM |
| Oxidized Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate | 2mM |
| Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (E.C.1.1.1.49, G-6-PDH) | 3000U/L |
| Hexokinase (E.C.2.7.1.1, hk) | 3000U/L |
| EDTA | 2mM |
| Buffer | 100mM |

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реагентите са само за "in vitro" употреба. Трябва да се спазват обичайните предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти. Не се препоръчва пипетиране с уста.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

Разтворете с количеството дестилирана вода, посочено на всяко шишенце, разклатете с въртливо движение, за да се разтвори.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Съхранявайте реагентите при 2-8°C преди разтваряне. Реагентът може да се използва до изтичане на срока на годност, посочен на опаковката. Разтвореният реагент е стабилен 21 дни в хладилник (2-8°C) и 24 часа при стайна температура.

Реагентът трябва да бъде изхвърлен, ако в сухия реагент има образувани бучки или има други признаци за проникване на влага. Разтвореният реагент не трябва да се използва, ако абсорбцията, измерена при 340 nm спрямо вода е по-висока от 0.7 или ако не постигне очакваните стойности при изследване на контролни материали.

Стабилността на реагента не се гарантира, ако е имало прехвърляне на реагентите от оригиналните им шишенца в други, ако реагентите не са съхранявани при указаната температура или ако по време на употреба е настъпило замърсяване.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Вземете пълна кръв от вената и оставете да се съсире. Центрофугирайте и веднага отделете серума. Според литературата серумът е стабилен 4 часа при стайна температура, 8-12 часа при 4 °C и 2-3 дни в замразено състояние.

Не трябва да се използват хемолизирани проби, тъй като могат да се получат странични реакции от аденилат киназа, аденозинов трифосфат и глюкоза-6-фосфат дехидрогеназа, които се освобождават от червените кръвни телца.

ПРОЦЕДУРА ЗА МАНУАЛНА РАБОТА

1. Разтворете реагента според инструкциите.
2. Пипетирайте по 1.0ml от реагента в подходящи епруветки и ги оставете да се темперират при 37°C в продължение на 4 минути.
3. Нулирайте спектрофотометъра с дестилирана вода при 340 nm.

4. Добавете 0.025ml (25µl) от пробата към реагента, смесете и темперирайте при 37°C в продължение на 2 минути.
5. След две минути отчетете абсорбцията. Върнете епруветката при 37°C. Повторете отчитането на всяка минута през следващите две минути.
6. Изчислете средната разлика в абсорбцията на минута (ΔAbs/min).
7. Умножете (ΔAbs/min) по фактор 6592, за да получите резултатите в IU/L.
8. Пробите със стойности над 1200 IU/L трябва да бъдат разредени 1:1 с физиологичен разтвор, тествани повторно и резултатите от тях да се умножат по 2.

Забележка: Ако спектрофотометърът изисква крайно количество по-голямо от 1.0 ml за точно отчитане, използвайте 3 ml реагент към 0.1 ml проба. В този случай умножете по фактор 4984, за да получите резултатите в IU/L.

Забележка: Ако спектрофотометърът е с термостатирана кювета, сместа на реакцията може да бъде оставена в нея до края на отчитанията.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Инхибитори на CK активност:

Прекомерно количество Mg⁺⁺, Cl⁻, SO₄⁻

Повечето тежки метали, напр. Zn⁺⁺, Cu⁺⁺, Mn⁺⁺

Йодоацетат и други сулфхидрилсвързващи агенти

Прекомерно количество ADP, цитрат, флуорид, L-Thyroxine

Прекомерно количество пикочна киселина

ИЗЧИСЛЕНИЯ

$$\text{IU/L} = \frac{\Delta \text{Abs}/\text{min} \times \text{TV} \times 1000}{d \times \epsilon \times \text{SV}} = \frac{\Delta \text{Abs}/\text{min} \times 1000 \times 1.025}{1 \times 6.22 \times 0.025}$$

$$= \Delta \text{Abs}/\text{min} \times 6592$$

Където:

ΔAbs/min = средна разлика в абсорбцията на минута

TV = общ обем на реакцията (1.025)

1000 = преизчисление на IU/ml в IU/L

ε = милимоларна абсорбтивност на NADH (6.22)

d = светлинен път (1cm)

SV = обем на пробата (0.025ml)

Пример: Ако ΔAbs/min = 0.015 то 0.015 x 6592 = 98.8 IU/L

За да се конвертират резултатите в SI единици (nkat/L), умножете стойността в IU/L по 16.67

ФАКТОРИ ЗА ТЕМПЕРАТУРНА КОНВЕРСИЯ

темп. на пробата желана температура фактор

30 37 1.67

37 30 0.60

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

25-192 IU/L (37°C)

10-109 IU/L (30°C).

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой диапазон на очаквани стойности.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Линейност: 1200 IU/L.

2. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с подобен метод даде коефициент на корелация 0.991 и уравнение на регресията y = 1.01x - 0.29.

3. Точност :

| | В серия | | Между серии | |
|-----------------------|---------|-------|-------------|-------|
| Средна стойн (mg/dl). | 111 | 373.5 | 110.9 | 367.4 |
| Станд. откл. | 1.6 | 12.4 | 4.3 | 10.3 |
| C.V.(%) | 1.5 | 3.3 | 3.9 | 2.8 |

RE: 09/01

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1