

REF 10222-4 4 x 23 мл / 6 мл

КРЕАТИНКИНАЗА (КК)

Каждый контейнер содержит полезный объем из 23 мл реагента R1 и 6 мл реагента R2.

НАЗНАЧЕНИЕ

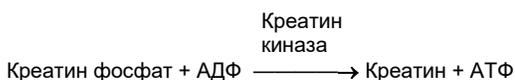
Реагент КК EasyRA предназначен для количественного определения ферментов креатинкиназы (КК) в человеческой сыворотке или плазме (с использованием литий-гепарина в качестве антикоагулянта) с помощью клинического биохимического анализатора MEDICA EasyRA®. Показатели измерения КК используются для диагностирования и лечения инфаркта миокарда и таких заболеваний мышц, как прогрессирующая псевдогипертрофическая миопатия Дюшенна. Только для диагностического применения *in vitro*. Только для профессионального применения.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ

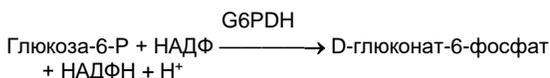
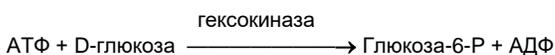
Креатинкиназа является ферментом, физиологическая функция которого заключается в катализировании переноса фосфатной группы с аденозин трифосфата (АТФ) на креатин. Большая часть креатинкиназы в организме содержится в мышечных клетках. Определение активности сывороточной КК полезно в диагностике заболеваний сердца и скелетной мускулатуры. Более высокие, чем норма, показатели креатинкиназы в сыворотке могут указывать как на повреждение мышечной ткани сердца, так и других тканей в результате хронического заболевания или травмы мышц.¹ Сывороточный уровень КК могут повышать внутримышечные инъекции и активные физические упражнения. Интерпретацию результатов следует проводить с учетом клинического состояния пациента. КК катализирует обратимое фосфорилирование креатина АТФ. При нейтральной pH обратимая реакция проходит с образованием АТФ из креатин фосфата. Используемый кинетический метод измерения является модификацией Szasz's² процедуры Rosalki,³ в которой используется последовательность парных ферментативных реакций, с креатин фосфатом в качестве субстрата.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

КК катализирует обратимый перенос фосфатной группы с креатин фосфата на АДФ с образованием АТФ.



С использованием двух парных реакций, в которых участвует гексокиназа (HK) и глюкоза-6-фосфат дегидрогеназа (G6PDH), может быть измерено образование АТФ. Уровень восстановления никотинамид аденин динуклеотид фосфата (НАДФ) до НАДФН может быть измерен спектрофотометрически по увеличению оптической плотности до 340 нм.



Уровень образования НАДФН прямо пропорционален активности КК в образце.

РЕАГЕНТЫ

Буферный реагент КК (R1):

Имидазольный буфер (pH 6,7)	100 ммоль/л
D-Глюкоза	20 ммоль/л
N-ацетил-L-цистеин	20 ммоль/л
Ацетат магния	10,0 ммоль/л
НАДФ	2,0 ммоль/л
ЭДТА	2,0 ммоль/л
Гексокиназа (пекарские дрожжи)	2500 ед/л

Субстратный реагент КК (R2):

Имидазольный буфер (pH 6,7)	100 ммоль/л
Креатин фосфат	30 ммоль/л
АДФ	2,0 ммоль/л
АМФ	5,0 ммоль/л
Диаденозин пентафосфат	10,0 мкмоль/л
Глюкозо-6- PDH (пекарские дрожжи)	1500 ед/л
ЭДТА	2,0 ммоль/л

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. При работе с любыми лабораторными реактивами должны соблюдаться стандарты безопасности надлежащей лабораторной практики. (CLSI, GP17-A2).
2. Реактивы содержат менее 0,1% азиды натрия, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными участками трубопровода с образованием взрывоопасных азидов металлов. Обратитесь к Спецификации по Безопасности для получения информации по риску, потенциальной опасности и безопасности.
3. Как и при любой диагностической процедуре, результаты должны интерпретироваться только в совокупности с результатами всех остальных анализов и клинического обследования пациента.
4. Не используйте вымытые пробирки.

ИНСТРУКЦИИ ПО ОБРАЩЕНИЮ, ХРАНЕНИЮ И СТАБИЛЬНОСТИ

Данный реагент поставляется в готовом к использованию виде. Нераспечатанный реагент стабилен до даты истечения срока годности на этикетке при температуре хранения 2–8°C. Реагент стабилен внутри охлажденной камеры для реагентов анализатора EasyRA в течение срока, запрограммированного на чипе радиочастотной идентификации (RFID) на контейнере реагента. Не используйте реагент, если он замутнен или непрозрачен, или если в сыворотке не удалось определить известные контрольные значения.

ОТБОР ОБРАЗЦОВ И ХРАНЕНИЕ/СТАБИЛЬНОСТЬ

Следует использовать прозрачную сыворотку или плазму без признаков гемолиза. Отцентрифугируйте и удалите сыворотку как можно быстрее после взятия. Сывороточная КК стабильна в течение 3 дней при температуре 2–8°C. Для сбора плазмы могут использоваться пробирки с литий-гепариновым покрытием.

ПРОЦЕДУРА

Предоставляемые материалы

Контейнер для реагента Medica KK, REF 10222

Необходимые дополнительные материалы

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Уровень А, REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Уровень В, REF 10794

Контейнер красителя для точного анализа Medica, REF 10764

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry & ISE, REF 10660 *или*

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry, REF 10661

Инструкции по применению

Данный реагент поставляется в готовом к использованию виде. Удалите колпачок и поместите реагент в отделение для реагентов анализатора EasyRA, расположенное в зоне для реагентов. Автономная стабильность (максимум 60 дней) запрограммирована в чипе RFID на контейнере реагента.

Примечание: проверьте внутреннюю поверхность горловины контейнера на наличие пены после удаления крышки и помещения контейнера в анализатор EasyRA. В случае наличия пены удалите ее тампоном или одноразовой пипеткой до проведения исследования. Используйте отдельные чистые тампоны или одноразовые пипетки для R1 и R2.

Калибровка

Не применяется.

Контроль качества

Рекомендуется проведение двух уровней контроля анализа на основе человеческой сыворотки (нормальный и аномальный) ежедневно в независимости от времени забора образцов и при каждой смене набора реагентов. Отсутствие верного спектра значений при анализе контрольного материала может указывать на нарушение свойств реагента, нарушение работы оборудования или ошибки в процедуре. При использовании калибраторов лаборатория должна соблюдать указания по контролю качества местных и федеральных властей, а также властей штата.

Результаты

После завершения анализа анализатор EasyRA рассчитывает концентрацию КК по изменению оптической плотности в минуту, объему образца, общему объему реакции, длине пути (см), равной 0,6, и молярной абсорбирующей способности, равной 6,22.

$$\text{КК (ед/л)} = (\Delta A/\text{мин}) \times \frac{(\text{общий объем (мкл)} \times 1000)}{(\text{молярная абсорбирующая способность} \times \text{длина пути (см)} \times \text{объем образца (мкл)})}$$

Показатель в ед/л активности КК является количеством фермента, который окисляет один мкмоль/л НАДФ в минуту.

Ожидаемые значения⁴

Референсный спектр значений КК в сыворотке и плазме следующий:

	37 °С
Взрослый мужчина:	24–195 ед/л
Взрослая женщина:	24–170 ед/л

Эти значения являются нормой. Из-за существующих различий между приборами, лабораториями и местным населением в каждой лаборатории рекомендуется провести установление собственного диапазона ожидаемых значений.

Ограничения процедуры (например, если образец выходит за пределы диапазона метода)

Избегайте использования гемолизированных образцов сыворотки или плазмы.

Если изменение оптической плотности в минуту ($\Delta A/\text{мин}$) больше, чем 0,20, что соответствует примерно 1200 ед/л, в результате будет виден сигнал «SD» (истощение субстрата). Более высокие показатели изменения оптической плотности выходят за границы линейных значений теста. Если оператор выбирает значок «Re-run», образец можно повторно анализировать, используя половину (1/2) его объема. Результаты повторного анализа рассчитываются для отображения анализа меньшего объема образца. Благодаря этому регистрируемый диапазон анализа КК растягивается до 2400 ед/л.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ⁵

Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон составляет от 7 до 1200 ед/л. Растянутый диапазон составляет от 7 до 2400 ед/л, если используется половина объема образца сыворотки (раствор 1:1).

Погрешность/Корреляция (CLSI, EP9-A2)

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении реагента Medica для КК (y) в анализаторе EasyRA с характеристиками сходного реагента КК (x) в анализаторе Roche COBAS MIRA*. Приведенные ниже данные являются показателями однократных измерений в анализаторе EasyRA против среднего от двух повторных значений, полученных в анализаторе COBAS MIRA.

Количество образцов	54	Размах выборки	от 7 до 1182 ед/л
Угловой коэффициент	1,0185	Отрезок, отсекаемый на оси y	5,5223
Коэффициент корреляции	0,9912	Уравнение регрессии:	$Y = 1,0185 \cdot X + 5,5223$

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении сопоставленных образцов сыворотки (x) и плазмы (y) с помощью реагента Medica для СА на анализаторе EasyRA. Приведенные ниже данные представляют собой результаты однократных измерений плазмы в сравнении со средним двух значений повторных измерений образцов сыворотки.

Количество образцов	53	Размах выборки	от 10 до 931 ед/л
Угловой коэффициент	1,0081	Отрезок, отсекаемый на оси y	-4,0906
Коэффициент корреляции	0,9986	Уравнение регрессии:	$Y = 1,0081 \cdot X - 4,0906$

* Cobas Mira является зарегистрированной торговой маркой Roche Diagnostics Operations, INC., Indianapolis, IN.

Расхождение результатов (CLSI, EP5-A2)

Повторные измерения каждого из трех уровней калибровочного (QC) материала проводились дважды в день в течение 20 дней. Из этих данных определялись точность внутри ряда измерений и общая точность.

Погрешность внутри ряда измерений:

Уровень QC ед/л	СО внутри ряда измерений ед/л	КВ внутри ряда измерений %
500	4,3	0,9
191	1,6	0,9
96	1,1	1,1

Общее расхождение результатов:

Уровень QC ед/л	СО общего расхождения результатов ед/л	КВ общего расхождения результатов %
500	10,8	2,2
191	4,7	2,5
96	1,7	1,7

Линейность (CLSI, EP6-A)

Линейные от 7 до 1200 ед/л, основываясь на линейной регрессии $Y = 0,9911 \cdot X + 17,661$.

Граница пустого образца (LOB):	1,73 ед/л	(CLSI, EP17-A)
Предел обнаружения (LOD):	2,38 ед/л	(CLSI, EP17-A)
Предел количественного анализа (LoQ):	6,7 ед/л	(CLSI, EP17-A, изменён)

Вещества, создающие помехи (CLSI, EP7-A)

Менее 10% интерференции классифицировалось как «отсутствие значимой интерференции».

Значительная интерференция при уровне гемоглобина выше 250 мг/дл. Избегайте использования гемолизированных образцов сыворотки или плазмы.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений билирубина до 25 мг/дл.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений триглицеридов до 1000 мг/дл (с использованием Intralipid*).

**Intralipid* является зарегистрированной торговой маркой Pharmacia AB, Clayton, NC.

Юнг приводит список лекарственных средств и других веществ, которые создают помехи при клинических лабораторных исследованиях.^{6,7}

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Quest, Vol 7(1), Feb 2000.
- 2 Szasz G. Proceedings of the Second International Symposium on Clinical Enzymology, Chicago October 1975.
- 3 Rosalki SB. *J. Lab Clin Chem* 23:646, 1977.
- 4 Tietz NW. *Clinical Guide to laboratory Tests*. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, (1995) p. 180.
- 5 Неопубликованные данные Medica.
- 6 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997.
- 7 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; *Effects of drugs on clinical laboratory tests. Clin Chem* 21: 246D, 1975.

Параметры анализа EasyRA (КК)

Длина волны (нм)	340
Тип реакции	Фермент (0)
Направление реакции	Увеличение
Пустой реагент	Нет
Пустой образец	Нет
Максимальный первый интервал. Отсутствие изменений	0,08
Время реакции	5,2 мин
Периодичность калибровок (максимальная)	Нет данных
Автономная стабильность реагента	60 дней

Сыворотка/плазма

Объем образца (мкл)	8,0
Объем растворителя (мкл)	20
Объем реактива R1 (мкл)	128
Объем реактива R2 (мкл)	32
Разряды десятичной дроби (по умолчанию)	0
Единицы (значения по умолчанию)	ед/л
Фактор разведения	1:1 (для расширения спектра измерения)
Линейность	от 7 до 1200 ед/л
Молярная абсорбирующая способность	6,22