

CK-NAC Reagenz - IFCC Einzelphiole

(Kreatin-Kinase, aktiviert durch N-Acetyl-Cystein)

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	: 7 Tage bei 2-8 °C
Linearer Bereich	: bis zu 1500 U/L
Probe Typ	: Serum
Methode	: Kinetische
Reagenz-Vorbereitung	: Hinzufügen der angegebenen Menge Puffers

IVD

VERWENDUNGSZWECK

Dieses Reagenz dient der quantitativen in-vitro-Bestimmung von CK (ATP: Kreatin N-Phosphotransferase, EC 2.7.3.2) in menschlichem Serum sowohl auf manuellen als auch automatisierten Systemen.

KLINISCHE BEDEUTUNG

Kreatin-Kinase (CK) ist ein dimeres Enzym, das aus zwei Arten von monomeren Untereinheiten besteht, M (Muskel) und B (Gehirn), die zusammen drei ausgeprägte CK-Isoenzyme bilden, CK-1 (BB), CK-2 (MB) und CK-3 (MM). Der Hauptanteil der gesamten CK-Aktivität tritt in den skelettalen Muskeln auf, und es handelt sich hierbei hauptsächlich um die CK-3 Isoform. Andere Gewebe mit relativ hohen CK-Werten sind das Myokardium, wo ungefähr 40% die CK-2 Isoform sind, der Magen-Darm-Trakt und das Gehirn, wo die CK-1 Isoform vorherrscht. Schäden oder Erkrankungen jeglicher dieser Gewebe, wie z.B. muskuläre Dystrophie, Herzinfarkt oder ein akuter Unfall, der die Gehirngefäße betrifft, führt zu erhöhten Blutwerten dieses Enzyms.

METHODE^{1,2,3}

Das CK-NAC, IFCC Einzelphiole-Reagenz basiert auf den Prinzipien der von der IFCC empfohlenen Prozedur.

Die Reaktionsfolge des Testsystems verläuft wie folgt:

1) Inaktiviertes CK + NAC \longrightarrow Reaktiviertes CK

2) Creatinphosphat + Mg-ADP \xrightarrow{CK} ATP + Creatin

3) ATP + Glukose \xrightarrow{HK} ADP + G-6-P

4) G-6-P + NADPH⁺ $\xrightarrow{G6PDH}$ 6-PG + NADPH + H⁺

5) 2ADP $\xrightarrow{AK} //$ \longrightarrow AMP + ATP
(gehemmt durch P¹P⁵-diAP und AMP)

- Da CK in Serum rapide inaktiviert wird, muss das CK-Molekül durch eine Thiol-Komponente reaktiviert werden, um volle katalytische Aktivität sicherzustellen. Während des ersten Stadiums inkubiert die Probe mit der Thiol-Komponente N-Acetyl-Cystein (NAC), die das CK-Molekül reaktiviert, indem die oxidierten Sulfhydryl-Komponenten an der aktiven Stelle rapide reduziert werden.
- Im zweiten Stadium initiiert das Substrat Kreatinphosphat eine Reihe katalysierter Reaktionen. In der ersten dieser Reaktionen katalysiert CK die Bildung von ATP von Kreatinphosphat und ADP.
- Das in 2. gebildete ATP wird verwendet, um Glukose-6-Phosphat in einer von Hexokinase katalysierten Reaktion zu bilden.
- Das in 3. gebildete Glukose-6-Phosphat wird zu 6-Phosphoglukonat oxidiert, und NADP wird in einer durch Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase katalysierten Reaktion zu NADPH reduziert.
- AMP und P¹P⁵-Di(Adenosin-5'-) Pentaphosphat (P¹P⁵-diAP) werden hinzugefügt, um die Adenylatkinase (Myokinase)-Aktivität zu unterbinden.

Abkürzungen:

ADP	= Adenosin-5'-Diphosphat
ATP	= Adenosin-5'-Triphosphat
HK	= Hexokinase
G-6-P	= Glukose-6-Phosphat
NADP ⁺	= Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
G-6-PDH	= Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase
6-PG	= 6-Phosphoglukonat
NADPH	= Reduziertes NADP
AMP	= Adenosin-5'-Monophosphat
AK	= Adenylatkinase
P ¹ P ⁵ -diAP	= P ¹ P ⁵ -Di(Adenosin-5'-)Pentaphosphat

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

EC REP	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
IVD	Für in vitro Diagnostik		Verfallsdatum
LOT	Batch Code / Losnummer		VORSICHT: Siehe Benutzungsvorschriften
REF	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsvorschriften	REAG B	Reagenz B
REAG A	Reagenz A		Enthält Quecksilber

REAGENZZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile

	Konzentration
AMP	5,25 mmol/L
NADP	2,2 mmol/L
P ¹ P ⁵ -diAP	10,5 µmol/L
EDTA	2,1 mmol/L
Mg ²⁺	11,6 mmol/L
ADP	2,1 mmol/L
D-Glukose	21 mmol/L
N-Acetyl-L-Cystein	21 mmol/L
Hexokinase (Hefe)	>3000 U/L
G-6-PDH (Leuconostoc)	>2000 U/L
Imidazol-Acetat	116 mmol/L
Kreatinphosphat	31,5 mmol/L
pH 6,75 ± 0,1 bei 20 °C	

WARNUNG: Nicht Einnehmen! Kontakt mit Augen und Haut vermeiden! Im Falle des Verschüttens die betroffenen Flächen gründlich mit Wasser waschen. Enthält Quecksilber. Halten Sie bei der Entsorgung unbedingt alle örtlichen, staatlichen und bundesstaatlichen Bestimmungen ein. Für zusätzliche Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel "CK-NAC Reagenz - IFCC Einzelphiole". Die Verpackung dieses Produkts enthält trockenen Naturkautschuk. Vorsicht beim Umgang mit Falzungen und zerbrochenen Glassphiole, da scharfe Kanten zu Verletzungen führen können.

REAGENZVORBEREITUNG

Reagenz A mit der auf dem Phioletikett angegebenen Menge des Puffers, Reagenz B, rekonstituieren. Bis zur Auflösung behutsam schütteln.

STABILITÄT UND LAGERUNG

Vor der Benutzung:

Bei gekühlter Lagerung bei einer Temperatur von 2-8 °C ist das Reagenz bis zu dem auf der Flasche und Testschachtel angegebenen Verfallsdatum stabil.

Rekonstituiertes Reagenz:

Das Reagenz ist bei verschlossener Lagerung in 2-8 °C für wenigstens 7 Tage stabil.

Indikationen einer Verschlechterung des Reagenz:

- Trübung,
- Reagenzabsorption >0,6 AU bei 340nm (1 cm Lichtweg) und/oder;
- Beobachtete Kontrollwerte sind außerhalb des erlaubten Bereichs.

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG¹

Serum: nicht-hemolysiertes Serum verwenden.

Plasma: Die Verwendung von Plasma, das Heparin, EDTA, Citrat oder Fluorid enthält, ist zu vermeiden.

Aufbewahrung: CK ist bei 4 °C einen Tag lang stabil. Die Stabilität kann je nach Serum etwas variieren und hängt von der Isoenzymverteilung und dem Säure-Basen-Status des Patienten ab.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT GELIEFERTE

AUSRÜSTUNG

- erforderlich, Pipetten zur genauen Beigabe gemessener Mengen.
- Klinisches Chemie-Messgerät, das eine konstante Temperatur (37 °C) sowie ein Mess-Absorptionsvermögen von 340 nm beibehalten kann.
- Gerätespezifische Materialien, z.B. Probebehälter, usw.
- Bereits gemessenes, normales und abnormales Kontrollmaterial

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

Die folgenden Systemparameter werden empfohlen. Individuelle Instrumentanwendungen sind auf Anfrage von der Technischen Unterstützungsgruppe erhältlich.

TESTPARAMETER

Temperatur	37 °C
Wellenlänge	340 nm (334, 365 nm)
Sekundäre Wellenlänge	405 nm
Testtyp	Geschwindigkeit/Kinetisch
Richtung	Erhöhung

Probe : Reagenz-Verhältnis	1 : 20
z.B.: Probe Volumen	0,05 mL
Reagenz Volumen	1,0 mL
Verzögerung/Lag	120 Sekunden
Ablesezeit	3 Minuten
Reagenz-Blindgrenzen	niedrig 0,0 AU
(340nm, 1cm Lichtweg)	hoch 0,6 AU
Linearität	bis zu 1500 U/L
(siehe Abschnitt Linearität)	
Sensitivität	0,30 ΔmA/min pro U/L
(340nm, 1cm Lichtweg)	

BERECHNUNGEN

Die Resultate werden - normalerweise automatisch vom Instrument - wie folgt berechnet:

Aktivität in U/L = ΔAbs/min x Faktor

$$\text{Faktor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Wobei:

- TV = Gesamte Reaktionsmenge in mL
- SV = Probemenge in mL
- 6,3 = millimolarer Absorptionskoeffizient von NADH bei 340nm (Siehe Anmerkung 4).
- P = Küvetten-Weglänge in cm.

Beispiel: ΔAbs/min = 0,027
 Faktor = 3333
 CK = 0,027 x 3333 = 90 U/L

ANMERKUNGEN

- Die Reagenz- und Probenmengen können proportional geändert werden, um sie verschiedenen Photospektrometern anzupassen.
- Falls die Änderung der Absorption höher als 0,45/min ist, sollte der Test mit verdünntem Serum wiederholt werden. Der Mengenanteil von Serum in der CK-Reaktion ist jedoch kritisch. Änderungen im Mengenanteil, wie sie in der Probenverdünnung stattfindet, produzieren keine stöchiometrischen Änderungen in der Reaktionsgeschwindigkeit. Falls eine Verdünnung notwendig ist, werden 150 mmol/L von NaCl empfohlen. Bei einer Verdünnung von 1:2 kann eine scheinbare Erhöhung von CK von maximal 10% erwartet werden.² Alternativ kann für die Verdünnung ein CK-freier Serumpool verwendet werden. CK-freies Serum kann durch Erhitzung von Serum bei 56°C für zwei Stunden produziert werden.
- Gültige Resultate hängen vom genau kalibrierten Instrument, sowie akkurater Zeitnahme und Temperaturkontrolle ab.
- Der millimolare Absorptionskoeffizient für NADH bei 334nm = 6,18 und bei 365nm = 3,40.
- Einheitsumrechnung: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μkat/L

KALIBRIERUNG

Nicht erforderlich. Der Reaktionsgrad wird mittels Berechnungsfaktor zu U/L -Aktivität umgerechnet. Siehe Abschnitt über Berechnungen dieser Packungsbeilage.

QUALITÄTSKONTROLLE

Um eine angemessene Qualitätskontrolle sicherzustellen, sollten bekannte (gemessene) normale und abnormale Proben zusammen mit den unbekannt Proben getestet werden:

- Mindestens alle acht Stunden.
 - Beim Gebrauch einer neuen Reagenzflasche.
 - Nach Wartung oder nach dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Kontrollresultate, die außerhalb der niedrigen oder hohen Grenzwerte des normalen Bereichs fallen, deuten darauf hin, dass der Test ungültig ist. Für solche Situationen empfehlen wir die folgenden korrektiven Maßnahmen:
- Wiederholen Sie dieselben Kontrollen.
 - Falls die erneuten Kontrollwerte außerhalb der Grenzwerte liegen, bereiten Sie frisches Kontrollserum vor und wiederholen Sie den Test.
 - Falls die Resultate frischen Kontrollmaterials immer noch außerhalb der Grenzwerte liegen, wiederholen Sie den Test mit frischem Reagenz.
 - Falls die Resultate immer noch außerhalb der normalen Werte liegen, wenden Sie sich an den Technischen Kundendienst oder Ihren lokalen Händler.

BESCHRÄNKUNGEN

- Es wurden Studien zur Bestimmung der Interferenz von Hämoglobin, Bilirubin und Lipämie auf einem automatischen klinischen Chemieanalysegerät durchgeführt. Es entstanden die folgenden Ergebnisse:
Hämoglobin: Hämolytierte Proben sollten vermieden werden, um Interferenz von Adenylatkinase und anderen Reaktionsstoffen wie ATP

und G-6-P zu vermeiden.⁴

Bilirubin: Keine Interferenz von Bilirubin bis zu 340 μmol/L (20 mg/dL).
Lipämie: Keine Interferenz von Lipämie, als Triglyzeride gemessen, bis zu 2,8 mmol/L (250 mg/dL).

- Young DS⁵ hat eine umfassende Liste von Medikamenten und Substanzen veröffentlicht, die diesen Test beeinträchtigen könnten.

ERWARTETE WERTE⁶

Bei 37°C	Männer	≤200	(3,3 μkat/L)
	Frauen	≤180	(3,0 μkat/L)
Bei 30°C	Männer	≤130	(2,1 μkat/L)
	Frauen	≤113	(1,9 μkat/L)

Die angegebenen Werte sind stellvertretend für den erwarteten Wertebereich bei dieser Methode und sollten nur als Richtlinie gelten. Es wird empfohlen, dass jedes Labor diesen Bereich verifiziert oder für die von ihm betreute Bevölkerungsgruppe ein Referenzintervall ableitet.⁷

*Berechnete Ergebnisse verwenden eine Temperaturumrechnung von 0,625 für 30°C. Thermo empfiehlt die routinemäßige Verwendung von Temperaturumrechnungsfaktoren nicht.

LEISTUNGSDATEN

Die folgenden Daten wurden unter Verwendung des CK-NAC IFCC Einzelpholien-Reagenz auf einem automatischen klinischen Chemie-Analysegerät erhalten.

UNGENAUIGKEIT

Die Ungenauigkeit wurde über einen Zeitraum von 20 Tagen evaluiert, wobei zwei Level kommerzieller Kontrollen in Übereinstimmung mit dem Verfahren NCCLS EP5-T verwendet wurden.⁸

Innerhalb Lauf	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Datenpunkte	80	80
Durchschnitt (U/L)	134	393
SD (U/L)	4,3	5,2
CV (%)	3,2	1,3

Zwischen Tagen	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Datenpunkte	80	80
Durchschnitt (U/L)	134	393
SD (U/L)	5,2	16,3
CV (%)	3,9	4,1

EXAKTHEIT (GENAUIGKEIT)

Zur Bezugnahme wurden mit einem ähnlichen im Handel erhältlichen CK-NAC-Reagenz Vergleichsstudien durchgeführt. Serumproben wurden parallel getestet und die Ergebnisse mittels der Methode der kleinsten Quadrate verglichen. Es entstand die folgende Statistik.

Zahl der Probenpaare	60
Bereich der Proben	17 - 749 U/L
Durchschnitt der Referenzmethode	148 U/L
Durchschnitt der CK-NAC Resultate	147 U/L
Steigung	1,01
Schnittpunkt	-1,15 U/L
Korrelations-Koeffizient	0,999

LINEARITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist der Test bis zu 1500 U/L.


SENSITIVITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist die Sensitivität dieses Tests 0,30 ΔmA/min pro U/L.

LITERATURHINWEISE

- Hörder M., Elser R.C., Gerhardt W., et al. Journal of the IFCC 1989; 1:130-8.
- Strömme JH., Theodorsen L., Hörder M., et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1976; 36:711-23
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 805.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Third Edition, 1990: 3:120-122
- Bais R, et al. Pathology 1988; 20:367-72.
- Wachtel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices NCCLS 1984; NCCLS publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
 a division of Fisher Scientific Company, LLC
 a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
 Middletown, VA 22645-1905 USA
 Phone: 800-528-0494
 540-869-3200
 Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF	Nachbestellinformation		
	Katalog Nr.	REAG A	REAG B
	TR14110	20 x 10 mL	1 x 200 mL
	TR14115	20 x 20 mL	2 x 200 mL
	TR14103	10 x 50 mL	1 x 500 mL
	TL14101 (ILab 600)	20 x 20 mL	1 x 400 mL