

# Αντιδραστήριο CK-NAK – IFCC Μονό Φιαλίδιο (Κρεατινική Κινάση, ενεργοποιούμενη από N-Ακέτυλο Κυστεΐνη)

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

Σταθερότητα	: 7 ημέρες στους 2-8°C
Γραμμικότητα	: Έως και 1500 U/L
Τύπος Δοκιμίου	: Ορός
Μέθοδος	: Κινητική
Προετοιμασία	: Προσθήκη καθορισμένης ποσότητας του αντιδραστήριου
	: ρυθμιστικού διαλύματος.

IVD

## ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το αντιδραστήριο αυτό προορίζεται για τον in vitro ποσοτικό προσδιορισμό της CK (ATP, Κρεατινική N-φωσφοτρανσφεράση, EC 2.7.3.2) σε ανθρώπινο ορό τόσο σε χειροκίνητα όσο και σε αυτοματοποιημένα συστήματα.

## ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η κρεατινική κινάση (CK) είναι ένα διμερές ένζυμο που αποτελείται από δύο τύπους μονομερών υπομονάδων, τη M (Μυϊκή) και B (Εγκεφαλική) οι οποίες συνδυάζονται για να σχηματίσουν τρία διακριτά ισόζυμα CK, το CK-1 (BB) το CK-2 (MB) και το CK-3 (MM). Η κύρια αναλογία της συνολικής ενεργότητας της CK βρίσκεται στο σκελετικό μυ και αυτή είναι κατά κύριο η ισομορφή CK-3. Άλλοι ιστοί με σχετικά υψηλά επίπεδα CK περιλαμβάνουν το μυοκάρδιο, της οποίας περίπου 40% είναι η ισομορφή CK-2, η γαστρεντερική οδός και ο εγκέφαλος όπου κυριαρχεί η CK-1 ισομορφή. Βλάβη ή νόσος σε οποιοδήποτε από αυτούς τους ιστούς όπως η μυϊκή δυστροφία, τα έμφραγμα του μυοκαρδίου και οξεία αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, θα έχει ως αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα στο αίμα του ενζύμου.

## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ<sup>1,2,3</sup>

Το αντιδραστήριο μονού φιαλιδίου, CK-NAK, IFCC βασίζεται στις αρχές της συνιστώμενης διαδικασίας του IFCC. Η σειρά των αντιδράσεων που εμπλέκονται στο σύστημα προσδιορισμού είναι οι ακόλουθες:

1) Αδρανοποιημένη CK + NAC → Επανενεργοποιημένη CK

2) Φωσφορική Κρεατίνη + Mg-ADP  $\xrightarrow{CK}$  ATP + Κρεατίνη

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

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

5) 2ADP  $\xrightarrow{AK} //$  → AMP + ATP  
(Αναστροφή από το P<sup>1</sup>P<sup>5</sup>-diAP και το AMP)

- Καθώς η CK στον ορό αδρανοποιείται ταχέως, προκειμένου να εξασφαλιστεί η πλήρης καταλυτική ενεργότητα, το μόριο της CK πρέπει να επανενεργοποιηθεί από μία θειολική ένωση. Κατά το πρώτο στάδιο, το δείγμα επωάζεται με τη θειολική ένωση N-ακέτυλο-κυστεΐνη (NAC) η οποία επανενεργοποιεί το μόριο της CK ανάγοντας ταχέως τις οξειδωμένες σουλφουδρυλικές ενώσεις στο ενεργό κέντρο.
- Στο δεύτερο στάδιο το υπόστρωμα, η φωσφορική κρεατίνη, ξεκινά μία σειρά καταλυόμενων αντιδράσεων. Στην πρώτη από αυτές τις αντιδράσεις η CK καταλύει το σχηματισμό ATP από φωσφορική κρεατίνη και ADP.
- Το ATP που σχηματίστηκε στο 2 χρησιμοποιείται για το σχηματισμό 6-φωσφορικής γλυκόζης σε μία αντίδραση που καταλύεται από την Εξοκινάση.
- Η 6-φωσφορική γλυκόζη που παράγεται στο 3 οξειδώνεται σε 6-φωσφορογλυκονικό και το NADP ανάγεται σε NADPH σε μία αντίδραση που καταλύεται από την αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης.
- Το AMP και πενταφωσφορική P<sup>1</sup>P<sup>5</sup>-Δι(αδενοσίνη-5') (P<sup>1</sup>P<sup>5</sup>-diAP) προστίθενται για να αναστείλουν την ενεργότητα της αδενυλικής κινάσης (μυοκινάση).

## Συντιμήσεις:

ADP	= 5'-διφωσφορική Αδενοσίνη
ATP	= 5'-τριφωσφορική Αδενοσίνη
HK	= Εξοκινάση
G-6-P	= 6-φωσφορική Γλυκόζη
NADP <sup>+</sup>	= Φωσφορικό Νικοτιναμίδο-Αδενίνο-Δινουκλεοτίδιο
G-6-PDH	= αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης
6-PG	= 6-Φωσφορογλυκονικό
NADPH	= Ανηγμένο NADP
AMP	= 5'-μονοφωσφορική Αδενοσίνη
AK	= Αδενυλική Κινάση
P <sup>1</sup> P <sup>5</sup> -diAP	= πενταφωσφορική P <sup>1</sup> P <sup>5</sup> -Δι(αδενοσίνη-5')

## ΣΥΜΒΟΛΑ ΣΤΗΝ ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟ

EC REP	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος	⚡	Περιορισμός θερμοκρασίας
IVD	Προοριζόμενο για διάγνωση in vitro	🕒	Χρήση μέχρι/ημερ/νια λήξης
LOT	Αριθμός παρτίδας	⚠️	ΠΡΟΣΟΧΗ: Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
REF	Αριθμός Καταλόγου	🏭	Κατασκευασμένο από
📖	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	🚫	Αντιδραστήρια B
REAG A	Αντιδραστήρια A	🚫	Περιέχει υδράργυρο

## ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

### Ενεργά Συστατικά

AMP	5,25 mmol/L
NADP	2,2 mmol/L
P <sup>1</sup> P <sup>5</sup> -diAP	10,5 μmol/L
EDTA	2,1 mmol/L
Mg <sup>2+</sup>	11,6 mmol/L
ADP	2,1 mmol/L
D-Γλυκόζη	21 mmol/L
N-ακέτυλο-Ι-κυστεΐνη	21 mmol/L
Εξοκινάση (ζυμομύκητα)	>3000 U/L
G-6-PDH (leucostoc)	>2000 U/L
Οξείκο Ιμιδαζόλιο	116 mmol/L
Φωσφορική Κρεατίνη	31,5 mmol/L
pH 6,75 ± 0,1 στους 20°C	

### Πυκνότητα

**ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ:** Μην καταπίνετε. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια. Ξεπλύνετε τα μέρη του σώματος με τα οποία έχει έρθει σε επαφή με νερό. Περιέχει υδράργυρο. Απορρίψτε το σύμφωνα με τις τοπικές, εθνικές και κοινοτικές οδηγίες. Για περαιτέρω πληροφορίες συμβουλευτείτε το Δελτίο Ασφαλείας Υλικού του Αντιδραστήριου CK-NAK-IFCC Μονό Φιαλίδιο. Η Συσκευασία του Προϊόντος αυτού Περιέχει Ξηρό Φυσικό Ελαστικό. Εκτελείτε με προσοχή το χειρισμό πτυχώσεων και φιαλιδίων θραυσμένης υάλου, καθώς οι αιχμηρές άκρες μπορεί να προκαλέσουν τραυματισμό του χρήστη.

## ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

Ανασυστήστε το Αντιδραστήριο A με τον όγκο του ρυθμιστικού διαλύματος, Αντιδραστήριο B, που υποδεικνύεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Αναμίξτε ελαφρά μέχρι τη διάλυση.

## ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ

**Προ της χρήσης:** Εφόσον φυλαχτεί σε ψυγείο στους 2-8°C το αντιδραστήριο είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη φιάλη και τη συσκευασία.

**Ανασυσταμένο Αντιδραστήριο:** Όταν φυλάσσεται πωματισμένο στους 2-8°C, το αντιδραστήριο είναι σταθερό για τουλάχιστον 7 ημέρες.

## Ενδείξεις Φθοράς του Αντιδραστήριου:

- Θολότητα,
- Απορροφητικότητα αντιδραστήριου > 0,6 AU στους 340 nm (οπτική διαδρομή 1cm) ή/και
- Αδυναμία ανάκτησης των τιμών ελέγχου εντός των οριζόμενων ορίων.

## ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ<sup>1</sup>

**Ορός:** Χρησιμοποιείτε μη αιμολυμένο ορό.

**Πλάσμα:** Αποφύγετε τη χρήση πλάσματος που περιέχει ηπαρίνη, EDTA, κινικά ή φθοριούχα.

**Φύλαξη:** Η CK είναι σταθερή για 1 ημέρα στους 4°C. Η σταθερότητα μπορεί να ποικίλλει λίγο ανάλογα με τον εξατομικευμένο ορό και εξαρτάται από την κατανομή ισοενζύμων και την οξεοβασική κατάσταση του ασθενούς.

## ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΟΡΓΑΝΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Αν απαιτούνται, πιπέτες για την ακριβή διανομή των μετρούμενων όγκων.
- Κλινικός χημικός αναλυτής με δυνατότητα διατήρησης σταθερής θερμοκρασίας (37°C) και μέτρηση απορροφητικότητας στα 340 nm.
- Αναλώσιμα για τον αναλυτή (π.χ. δοχεία δειγμάτων)
- Ανώμαλο και κανονικό υλικό ελέγχου δοκιμίων.

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Συνιστώνται οι ακόλουθες παράμετροι για το σύστημα. Διατίθενται μεμονωμένες εφαρμογές οργάνων μετά από αίτημα στο Τμήμα Τεχνικής Υποστήριξης.

## ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Θερμοκρασία	37°C
Πρωτογενές Μήκος κύματος	340 nm (334, 365 nm)
Δευτερογενές μήκος κύματος	405 nm
Τύπος Προσδιορισμού	Ρυθμού/Κινητικός
Κατεύθυνση	Αύξηση
Αναλογία Δείγματος : Αντιδραστήριου	1 : 20

π.χ.: Όγκος δείγματος	0,05 mL
Όγκος αντιδραστήριου	1,0 mL
Χρόνος υστέρησης	120 δευτερόλεπτα
Χρόνος ανάγνωσης	3 λεπτά
Τυφλά Όρια Αντιδραστήριου	Χαμηλά 0,0 AU
(340 nm, οπτική διαδρομή 1cm)	Υψηλά 0,6 AU
Γραμμικότητα	Έως και 1500 U/L
(ανατρέξτε στην παράγραφο γραμμικότητας)	
Ευαισθησία	0,30 ΔmA/λεπτό ανά U/L
(340 nm, οπτική διαδρομή 1cm)	

#### ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Τα αποτελέσματα υπολογίζονται συνήθως αυτόματα από το εργαλείο ως ακολούθως:

#### Ενεργότητα σε U/L = ΔAbs/λεπτό x Παράγοντας

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

Όπου: TV = υνολικός όγκος αντίδρασης σε mL  
SV = Όγκος δείγματος σε mL  
6,3 = χιλιοστομοριακός συντελεστής απορρόφησης του NADH στα 340nm (Βλέπε σημείωση 4).  
P = Μήκος κυψελίδας σε cm.

Παράδειγμα: ΔAbs/min = 0,027  
Συντελεστής = 3333  
CK = 0,027 x 3333 = 90 U/L

#### ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Οι ποσότητες του αντιδραστήριου και των δειγμάτων μπορούν να τροποποιηθούν αναλογικά προκειμένου να εξυπηρετήσουν τις απαιτήσεις διαφορετικών σπεκτροφωτόμετρων.
- Αν η μεταβολή στην απορρόφηση είναι μεγαλύτερη από 0,45/λεπτό, επαναλάβετε τον ποσοτικό προσδιορισμό με αραιωμένο ορό. Ωστόσο, το κλάσμα του όγκου του ορού στο σύστημα αντίδρασης της CK είναι κρίσιμης σημασίας. Μεταβολές στο κλάσμα του όγκου, όπως θα συμβεί σε προ-αραίωση του δείγματος, δεν παράγει στοιχειομετρικές μεταβολές στο ρυθμό της αντίδρασης. Αν η αραίωση είναι απαραίτητη συνιστάται 150 mmol/L NaCl. Σε μία αραίωση 1:2 μπορεί να αναμένεται μία φαινόμενη αύξηση της CK κατά 10% το μέγιστο.<sup>2</sup> Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αραίωση ένα μείγμα ορού ελεύθερο από CK. Ορός, ελεύθερος από CK, μπορεί να παραχθεί θερμαίνοντας ορός στους 56°C για δύο ώρες.
- Τα έγκυρα αποτελέσματα εξαρτώνται από την ακριβή βαθμονόμηση του οργάνου, το χρονισμό και τον έλεγχο της θερμοκρασίας.
- Η χιλιοστομοριακός συντελεστής απορρόφησης για το NADH στα 340nm = 6,18 και στα 365nm = 3,40.
- Μετατροπή μονάδων: U/L x 16,67 x 10<sup>-3</sup> = μkat/L

#### ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ

Δεν απαιτείται. Ο ρυθμός της αντίδρασης μετατρέπεται σε U/L ενεργότητας με ένα παράγοντα υπολογισμού. Ανατρέξτε στην παράγραφο υπολογισμού του ενθέτου της συσκευασίας.

#### ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Προκειμένου να εξασφαλιστεί ο επαρκής έλεγχος, κανονικά και ανώμαλα υλικά ελέγχου με δοκιμασμένες αξίες θα πρέπει να εξετάζονται ως άγνωστα δείγματα:-

- Τουλάχιστον κάθε οκτώ ώρες.
- Όταν χρησιμοποιείται νέα φιάλη αντιδραστήριου.
- Εφόσον γίνει προληπτική συντήρηση ή αντικατασταθεί κρίσιμο εξάρτημα.

Αποτελέσματα ελέγχου τα οποία είναι εκτός των υψηλότερων και κατώτερων προκαθορισμένων σημείων αποτελούν ένδειξη ότι η δοκιμή βρίσκεται εκτός ελέγχου.

Συνιστώνται οι ακόλουθες διορθωτικές ενέργειες στις περιπτώσεις αυτές:-

- Επαναλάβετε τους ίδιους ελέγχους.
- Εάν τα αποτελέσματα ελέγχου είναι επανειλημμένως εκτός των ορίων, ετοιμάστε νέο ορό ελέγχου και επαναλάβετε τη δοκιμή.
- Αν τα αποτελέσματα του φρέσκου υλικού ελέγχου παραμένουν ακόμα έξω από τα όρια, τότε επαναλάβετε την εξέταση με φρέσκο αντιδραστήριο.
- Αν και πάλι τα αποτελέσματα είναι εκτός ελέγχου, επικοινωνήστε με τις Τεχνικές Υπηρεσίες ή με τον τοπικό διανομέα.

#### ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟ

- Διεξήχθησαν μελέτες για τον προσδιορισμό του επιπέδου παρεμπόδισης από αιμοσφαιρίνη, χολερυθρίνη και λιπαίμια σε ένα αυτοματοποιημένο αναλυτή κλινικής χημείας. Λήφθηκαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:  
**Αιμοσφαιρίνη:** Αιμολυμένα δείγματα θα πρέπει να αποφεύγονται προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η παρεμπόδιση από την αδενυλική κυκλάση και άλλα ενδιάμεσα των αντιδράσεων όπως το ATP και η G-6-P.<sup>4</sup>

**Χολερυθρίνη:** Καμία παρέμβαση από χολερυθρίνη μέχρι 340 μmol/L (20 mg/dL).

**Λιπαίμια:** Καμία παρεμπόδιση από λιπαίμια, μετρούμενη ως τριγλυκερίδια, έως και 2,8 mmol/L (250 mg/dL).

- Ο Young DS<sup>5</sup> δημοσίευσε έναν εκτενή κατάλογο φαρμάκων και ουσιών που μπορεί να παρεμποδίζουν με τον προσδιορισμό αυτό.

#### ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ<sup>6</sup>

Στους 37°C	Άντρες	≤200	(3,3 μkat/L)
	Γυναίκες	≤180	(3,0 μkat/L)
Στους 30°C*	Άντρες	≤130	(2,1 μkat/L)
	Γυναίκες	≤113	(1,9 μkat/L)

Οι αναφερόμενες τιμές είναι αντιπροσωπευτικές για το αναμενόμενο εύρος για τη μέθοδο αυτή και θα πρέπει να εξυπηρετούν ως οδηγός και μόνο. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να επιβεβαιώνει το εύρος αυτό ή να δημιουργεί ένα διάστημα αναφοράς για τον πληθυσμό που εξυπηρετεί.<sup>7</sup>

\*Υπολογισμένα αποτελέσματα χρησιμοποιώντας μία μετατροπή θερμοκρασίας 0,625 για τους 30°C. Η Thermo δεν συνιστά τη συνήθη χρήση παραγόντων μετατροπής θερμοκρασίας.

#### ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Τα ακόλουθα δεδομένα λήφθηκαν χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο μονού φιαλιδίου CK-NAC IFCC, σε έναν αυτοματοποιημένο αναλυτή κλινικής χημείας.

#### ΑΝΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ανακρίβεια αξιολογήθηκε σε μία περίοδο 20 ημερών χρησιμοποιώντας δύο επίπεδα υλικού ελέγχου του εμπορίου και ακολουθώντας την διαδικασία NCCLS EP5-T.<sup>8</sup>

#### Εντός Προσδιορισμού

	ΕΠΙΠΕΔΟ I	ΕΠΙΠΕΔΟ II
Αριθμός δεδομένων	80	80
Μέσος όρος (U/L)	134	393
SD (U/L)	4,3	5,2
CV (%)	3,2	1,3

#### Μεταξύ ημερών

	ΕΠΙΠΕΔΟ I	ΕΠΙΠΕΔΟ II
Αριθμός δεδομένων	80	80
Μέσος όρος (U/L)	134	393
SD (U/L)	5,2	16,3
CV (%)	3,9	4,1

#### ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Διεξήχθησαν συγκριτικές μελέτες χρησιμοποιώντας ένα παρόμοιο εμπορικά διαθέσιμο αντιδραστήριο CK-NAC ως αναφορά. Τα δείγματα ορού προσδιορίστηκαν παράλληλα και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με παλινδρόμηση ελαχίστων τετραγώνων. Λήφθηκαν οι ακόλουθες στατιστικές παράμετροι.

Αριθμός ζευγών δειγμάτων	60
Εύρος αποτελεσμάτων δειγμάτων	17 - 149 U/L
Μέσος όρος αποτελεσμάτων της μεθόδου αναφοράς	148 U/L
Μέσος όρος αποτελεσμάτων CK-NAC	147 U/L
Κλίση	1,01
Τομή στον άξονα των ψ	-1,15 U/L
Συντελεστής Συσχέτισης	0,999

#### ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Όταν η εκτέλεση γίνεται όπως συνιστάται, ο προσδιορισμός είναι γραμμικός έως και 1500 U/L.


#### ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ


Όταν εκτελείται όπως συνιστάται η ευαισθησία του προσδιορισμού αυτού είναι 0,30 ΔmA/λεπτό ανά U/L.

#### ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Harder M., Elser R.C., Gerhardt W., et al. Journal of the IFCC 1989; 1:130-8.
- Strömme J.H., Theodorsen L., Harder 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

#### Πληροφορίες για Παραγγελίες

##### Αρ. Καταλόγου.

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