

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje aktivnosti kreatin kinaze(CK) u serumu ili plazmi.

METODA

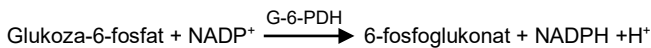
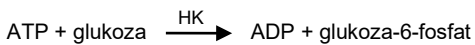
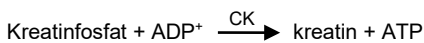
IFCC kinetički, spektrofotometrijski UV metod.

KLINIČKI ZNAČAJ

Merenje aktivnosti kreatin kinaze je značajno za dijagnostikovanje i lečenje oboljenja skeletne muskulature, srca, jetre, centralnog nervnog sistema i tiroidee.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Brzina redukcije oksidovanog oblika koenzima NADP u NADPH direktno je proporcionalna aktivnosti kreatin kinaze (CK)^{1,2}:

**REAGENSI**

CK, Ref: CKF-125 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 50 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 25 mL

CK, Ref: CKF-250 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 50 mL

SASTAV RADNOG REAGENSA

Rg.1	Imidazol acetat pufer pH 6,5	100 mmol/L
	N-acetilcistein	20 mmol/L
	Magnezijum - acetat	10 mmol/L
	Glukoza	20 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Diadenozin-pentafosfat	10 mmol/L
	NADP	2 mmol/L
	Heksokinaza	>2500 U/L
Rg.2	Kreatinfosfat	30 mmol/L
	ADP	2 mmol/L
	AMP	5 mmol/L
	G-6-PDH	>1500 U/L
	Stabilizatori	

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens se priprema mesanjem 4 zapremine Rg.1 i jedne zapremine Rg.2.

Start supstratom : Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens stabilan je 28 dana ako se čuva na 2 - 8°C.

Start supstratom : reagensi u originalnom pakovanju su stabilni do isteka označenog roka ako se čuvaju na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan serum ili plazmu pripremljenu sa heparinom ili EDTA.

Stabilnost : 2 dana na 20-25 °C

7 dana na 4-8 °C

1 mesec na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL
- CK/CK-MB kontrola	Ref: CCK-002	1x2 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analitički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	340/405 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	30, 37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 50
Reakcija :	Kinetička
Inicijalna A reagensa :	< 0.8 Abs

Start uzorkom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	20 µL
Radni reagens	1000 µL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 3 minuta na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A₀), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A₁, A₂, A₃) na 340 nm.

Start supstratom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	20 µL
Rg.1	800 µL

Promešati, a zatim dodati:

Rg.2	200 µL
------	--------

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 3 minuta na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A₀), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A₁, A₂, A₃) na 340 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa

- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$\Delta A_1 = A_1 - A_0 \quad \Delta A_2 = A_2 - A_1 \quad \Delta A_3 = A_3 - A_2$$

$$\Delta A = (\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3) / 3$$

$$C = \Delta A \cdot 8095 \text{ (U/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Odrasli	30° C	37° C
Muškarci	15 – 130 U/L	24 – 195 U/L
Žene	15 - 110 U/L	24 - 170 U/L

Na referentne vrednosti utiče (pored drugih faktora) starosna struktura i etnički sastav populacije. Zato se preporučuje da svaka laboratorija odredi sopstvene referentne vrednosti.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 8 do 2200 U/L CK.

Ukoliko je aktivnost CK veća od 2200 UL razblažiti uzorak (1+9) sa fiziološkim rastvorom, ponoviti analizu i dobijeni rezultat pomnožiti sa 10.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 3 U/L

LoQ = 8 U/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,124 \Delta mAbs$ po U/L

Interferencije

Na određivanje CK ne utiču sledeća jedinjenja:

bilirubin	$c < 1000 \text{ } \mu\text{mol/L}$ (58,5 mg/dL)
hemoglobin	$c < 10,0 \text{ g/L}$
trigliceridi	$c < 22,6 \text{ mmol/L}$ (2000 mg/dL).

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 135,07	Sd = 3,90	KV = 2,94 %
Uzorak 2	Xsr = 422,0	Sd = 7,61	KV = 1,80 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 135,36	Sd = 5,24	KV = 3,87 %
Uzorak 2	Xsr = 423,57	Sd = 10,65	KV = 2,52 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{3,4} između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzoraka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$$y = 1,0019 x - 0,4643$$

$$r = 0,9997$$

LITERATURA

1. B. Štraus, Medicinska Biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
2. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
3. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.
4. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____