

Skirta tik *in vitro* diagnostikai.**METINĖ PERŽIŪRA**

Peržiūrėjo	Data	Peržiūrėjo	Data

PRINCIPAS**PASKIRTIS**

Kinetinis UV tyrimas, kurio paskirtis – nustatyti kreatino kinazės, EB 2.7.3.2 (CK), kiekį žmogaus serume ir plazmoje „Beckman Coulter“ AU analizatoriais. Skirta tik *in vitro* diagnostikai.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAINuoroda^{1,2,3,4}

Kreatino kinazė (CK) yra dimeras, sudarytas iš M-raumenų ir (arba) B-smegenų subvienetų, kurie asocijuojasi ir sudaro izofermentus CK-MM, CK-MB bei CK-BB, katalizuojantis grįžtamąjį kreatino fosforilinimą, kurį atlieka ATP. CK daugiausia matuojama miokardo infarktui diagnozuoti ir gydyti, be to, tai yra jautriausias raumenų pažeidimo rodiklis. CK padidėja, kai vyksta raumenų nekrozė arba regeneracija, todėl padidėjęs lygis aptinkamas, kai sergama dauguma miopatijų, pvz., Diušeno (Duchenne) raumenų distrofija, arba su raumenų nekroze susijusia liga, pvz., rabdomiolize. Bendras CK kiekis taip pat gali padidėti sergant CNS ligomis, pvz., Rejė (Reye) sindromu, o 70 kartų padidėjęs CK aktyvumas parodo encefalopatijos sunkumą.

CK-BB dominuoja smegenyse, prostatoje, virškinimo trakte, plaučiuose, inkstuose, šlapimo pūslėje, gimdoje, kepenyse, skydliaukėje ir placentoje. CK-MM dominuoja skeleto ir širdies raumenyse. Sveikų asmenų bendrą aktyvumą sudaro daugiausia CK-MM, o kitų CK izofermentų ir jų formų yra tik pėdsakai arba neaptinkamas kiekis. Įvairus CK-MB lygis aptinkamas širdies raumenyje, o mažas lygis – skeleto raumenyse.

CK aktyvumas padidėja po miokardo pažeidimo, įvyksta žymus CK-MM ir CK-MB frakcijų padidėjimas. Proporcingas CK-MB frakcijos didėjimas tam tikru laipsniu priklauso nuo miokardo pažeidimo dydžio ir ankstesnių miokardo pažeidimų istorijos. Pagal CK-MB ir CK-MM santykio pokyčius galima diagnozuoti miokardo infarktą (MI), santykio reikšmė būna didžiausia praėjus 1,5 valandos po MI. Bendro CK kiekio nustatymo, kai diagnozuojamas MI, diagnostinį jautrumą ir specifiškumą galima pagerinti nustatant CK didėjimo greitį („pokrypį“) serijiniuose mėginiuose, kurie paimti priėmus pacientą ir praėjus 4, 8 bei 12 valandų po to. Lygio didėjimas tam tikrą laiką su 50 % prieaugiu per valandą leidžia 94 % bendruoju efektyvumu atskirti ūminį MI nuo neinfarktinės būsenos.

Jei pacientui reikalinga ankstyva miokardo infarkto diagnozė, jai patvirtinti rekomenduojama tirti greitai pasirodantį biologinį žymeklį, pvz., CK-MB, ir biologinį žymeklį, kurio lygis pakyla vėliau, pvz., širdies troponiną.

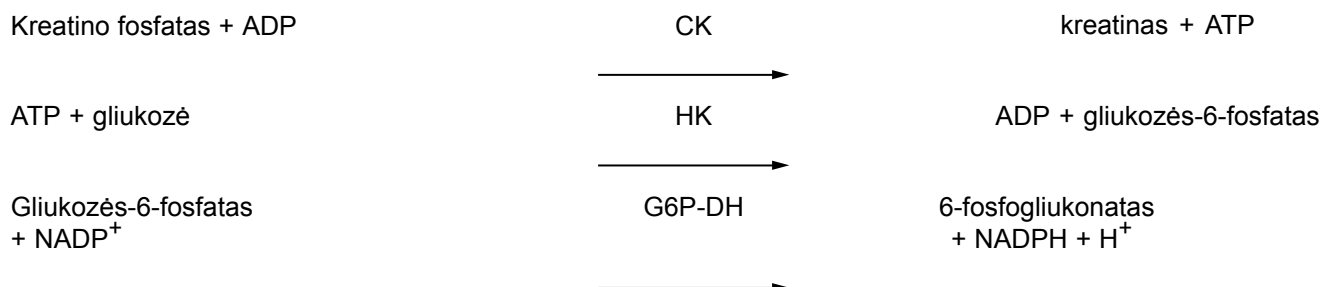
METODOLOGIJA

Nuoroda⁵

Metodas paremtas IFCC (Tarptautinės klinikinės cheminės analizės federacijos) rekomendacijomis.

CK grįžtamai katalizuoja fosfato grupės perdavimą iš kreatino fosfato į adenosino difosfatą (ADP), taip susidaro kreatinas ir adenosino trifosfatas (ATP). Susidaręs ATP naudojamas gliukozės-6-fosfatui ir ADP gauti iš gliukozės. Šią reakciją katalizuoja heksokinazė (HK), kuri maksimalų aktyvumą pasiekia esant magnio jonų. Veikiant fermento gliukozės-6-fosfato dehidrogenazei (G6P-DH) gliukozės-6-fosfatas yra oksiduojamas, tuo pačiu metu vyksta kofermento nikotinamidadeninukleotido fosfato (NADP) redukcija ir susidaro NADPH bei 6-fosfogliukonas. Optinio tankio didėjimo (dėl NADPH susidarymo) greitis naudojant 340 / 660 nm ilgio bangas yra tiesiogiai proporcingas CK aktyvumui mėginyje.

CHEMINĖS REAKCIJOS SCHEMA



BANDINYS

BANDINIO RŪŠIS

Rekomenduojamas serumo mėginys. Venkite hemolizuotų mėginių. Palaukite, kol mėginys koaguliuos, tuomet skubiai pašalinkite serumą iš kraujo kūnelių, kad sumažintumėte hemolizę ir užteršimą eritrocituose esančia adenilato kinaze.

Nuo šviesos apsaugotame serume yra stabilus 8 – 12 valandų, laikant 2...8 °C, ir 4 valandas, laikant 15...25 °C temperatūroje.^{5,6}

Taip pat galima naudoti nehemolizuotą heparinizuotą plazmą. Plazmos mėginiuose kartais vyksta nenusipėjimo santykio reakcijos, todėl galima gauti klaidingai mažus rezultatus.⁵ Plazmos su EDTA, oksalatu arba citratu naudoti nerekomenduojama.

REAGENTAI

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

Imkitės įprastų atsargumo priemonių, kurių reikalaujama naudojant visus laboratorinius reagentus.

Išmeskite visas atliekamas medžiagas pagal vietines rekomendacijas.

Šio gaminio sudėtyje yra gyvulinės kilmės medžiagos. Gaminys turi būti laikomas galima užkrečiamąja medžiaga.

AKTYVIEJI REAGENTAI

Reaktyvių ingredientų galutinė koncentracija

Imidazolas (pH 6,5 esant 37 °C)	100 mmol/l
NADP	2,0 mmol/l
ADP	2,0 mmol/l
AMP	5,0 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
Gliukozė	20 mmol/l
Kreatinfosfatas	30 mmol/l
N-acetilcisteinas	0,2 mmol/l
Aktyvatorius	26 mmol/l
Mg ²⁺	10 mmol/l
Diadenozino pentaosfatas	0,01 mmol/l
HK	≥ 4,0 kV/l
G6P-DH	≥ 2,8 kV/l
Stabilizatoriai	
Konservantas	

Rinkinio etiketėje nurodytų reagentų reagentinių komponentų koncentracijos atitinka atskirų R1 / R2 buteliukų faktines koncentracijas. Naudojimo instrukcijoje nurodyta reagento sudėtis atitinka šių komponentų galutinę koncentraciją reakcijos kiuvetėje, įpylus R1, mėginio ir R2.



DĖMESIO

Natrio azido konservantas metaliniuose nuotekų vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir profesinės sveikatos instituto biuletenį: sprogstamojo azido pavojus) (1976-08-16).

Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

VISUOTINAI SUDERINTOS SISTEMOS (GHS) PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

CK NAC R1-1

PAVOJINGA



H316	Sukelia nedidelį odos dirginimą.
H360	Gali pakenkti vaisingumui arba negimusiam vaikui.
P201	Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas.
P280	Mūvėti apsaugines pirštines, vilkėti apsauginę aprangą ir naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
P308+P313	ESANT sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją.
P332+P313	Jeigu sudirginama oda: kreiptis į gydytoją.
Imidazolas 0,5 - < 1 %	

CK NAC R1-2

PAVOJINGA



H316	Sukelia nedidelį odos dirginimą.
H360	Gali pakenkti vaisingumui arba negimusiam vaikui.
P201	Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas.
P280	Mūvėti apsaugines pirštines, vilkėti apsauginę aprangą ir naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
P308+P313	ESANT sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją.
P332+P313	Jeigu sudirginama oda: kreiptis į gydytoją.
Imidazolas 0,5 - < 1 %	
Tioglicerolis 1 - 5 %	

CK NAC R2

ATSARGIAI



H317	Gali sukelti alerginę odos reakciją.
H412	Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.
P273	Saugoti, kad nepatektų į aplinką.
P280	Mūvėti apsaugines pirštines, vilkėti apsauginę aprangą ir naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
P333+P313	Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją.
P362+P364	Nusivilkti visus užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant.
mišinys: 5-chlor-2-metil-4-izotiazolin-3-ono [EB Nr. 247-500-7] ir 2-metil-4-izotiazolin-3-ono [EB Nr. 220-239-6] (3:1) < 0,05 %	

REAGENTO PARUOŠIMAS

R1:

visą buteliuko R1-2 turinį reikia perkelti į visą buteliuko R1-1 turinį. Prieš įdėdami į prietaisą, atsargiai vartydami išmaišykite.

R2:

Reagentas yra paruoštas naudoti, jį galima dėti tiesiai į prietaisą.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Neatidaryti reagentai yra stabilūs iki nurodytos galiojimo pabaigos datos, laikant 2...8 °C temperatūroje. Atidaryti ir prietaise laikomi reagentai lieka stabilūs 30 dienų.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMAI

Akivaizdus mikroorganizmų augimas, drumstimas, nuosėdos ar bet koks reagento spalvos pasikeitimas gali būti gedimo požymis. Tokiu atveju reagento naudoti negalima.

KALIBRAVIMAS

KALIBRAVIMO INFORMACIJA

Tyrimas atliekamas MB režimu. Norint patikimai sugeneruoti specifinį analizatoriaus MB koeficientą, rekomenduojama atlikti 5 atskirus kalibravimus. Per kiekvieną iš jų reikia naudoti naują kalibratoriaus buteliuką su „System Calibrator“ kat. nr. 66300, kurio kalibravimo režimas AB. Skaičiuojant atskiruose tyrimuose gautų rezultatų vidutinį koeficientą, reikia patikrinti, ar duomenyse nėra akivaizdžiai išsiskiriančių stebėjimų, kuriuos reikia pakartoti ir pakeisti naujais rezultatais. Jei naudojate AU2700 / AU5400 analizatorių, šią procedūrą reikia atlikti su kiekvienu žiedu. Kokybės kontrolės procedūras reikia atlikti iš karto po kalibravimo, vadovaujantis gera laboratorijos praktika.

Kalibratoriaus reikšmę galima atsekti pagal IFCC pamatinį metodą.

Pakeitus svarbią analizatoriaus dalį, rekomenduojama iš naujo nustatyti specifinį analizatoriaus MB koeficientą.

Pradedant naudoti naują reagentų partiją, rekomenduojama atlikti tuščiojo reagento matavimą.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Galima naudoti kontrolines medžiagas kat. nr. ODC0003 ir ODC0004 arba kitas kontrolines medžiagas, kurios turi reikšmes, nustatytas pagal šią „Beckman Coulter“ sistemą.

Kiekviena laboratorija turi nustatyti savą kontrolinės medžiagos tyrimo dažnumą.

Pagal gerą laboratorijos praktiką kontrolines medžiagas rekomenduojama tirti kiekvieną dieną, kai tiriama paciento mėginiai, ir kaskart, kai atliekamas kalibravimas. Kontrolinių medžiagų tyrimo reikšmės turi atitikti nurodytas ribas, kurias nustato vartotojas. Jei aptiksite kokių nors reikšmių tendencijų ar staigių pokyčių, peržiūrėkite visus darbinius parametrus.

Kiekviena laboratorija turi nustatyti ištaisomųjų veiksmų gaires, jei kontrolinių medžiagų tyrimo rezultatai neatitinka nurodytų ribų.

TYRIMO PROCEDŪRA (-OS)

Nurodymai, kaip konkrečiu analizatoriumi tirti skyriuje „Paskirtis“ nurodytų tipų mėginius, pateikiami „Beckman Coulter“ analizatoriaus AU „User Guide“ (Naudotojo žinyne) arba „Instructions for Use“ (IFU) (Naudojimo instrukcijoje).

SKAIČIAVIMAI

„Beckman Coulter“ analizatoriai automatiškai apskaičiuoja kreatino kinazės aktyvumą kiekviename mėginyje.

REZULTATŲ PATEIKIMAS

PAMATINIAI VERČIŲ INTERVALAI

Nuoroda⁷

Vyrų	< 171 V/l (2,85 µkat/l)
Moterų	< 145 V/l (2,42 µkat/l)

Tikėtinos reikšmės gali skirtis atsižvelgiant į amžių, lytį, mėginio tipą, mitybą ir geografinę vietą. Kiekviena laboratorija turi patikrinti galimybę perkelti tikėtinas reikšmes į savo populiaciją, o jei reikia, turi nustatyti savas normos ribas vadovaudamasi gera laboratorijos praktika. Diagnozavimo tikslais gautus rezultatus visada reikia vertinti atsižvelgiant į paciento ligos istoriją, klinikinius tyrimus ir kitus duomenis.

PROCEDŪROS PASTABOS

TRUKDŽIAI

Atlikus tyrimus, kuriais buvo siekiama įvertinti metodo jautrumą medžiagų įtakai, gauti tokie rezultatai:

Gelta:	įtaka mažesnė nei 3 % iki 40 mg/dl arba 684 µmol/l bilirubino
Hemolizė:	įtaka mažesnė nei 10 % iki 5 g/l hemoglobino
Lipemija:	įtaka mažesnė nei 3 % iki 1 000 mg/dl „Intralipid“

Išsamesnę informaciją apie įtaką darančias medžiagas žr. Young.⁸

ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

Šiame skyrelyje pateikti duomenys nurodo „Beckman Coulter“ sistemų eksploatavimo ypatybes. Jūsų laboratorijoje gauti duomenys gali skirtis nuo šių reikšmių.

LINIJIŠKUMAS

Tyrimas yra tiesinis esant 10 – 2 000 V/l (0,17 – 33,33 µkat/l) fermentų aktyvumui.

JAUTRUMAS

Naudojant analizatorių AU640, apskaičiuotas mažiausias aptinkamas lygis buvo 3 V/l.

Mažiausias aptinkamas lygis reiškia mažiausią išmatuojamą CK lygį, kurį galima atskirti nuo nulio. Jis apskaičiuojamas prie absoliutaus vidurkio pridėdant mėginio be analizės 20 kartotinių tris standartinius nuokrypius.

METODŲ PALYGINIMAS

Naudojant paciento serumo mėginius šis CK-Nac OSR6179 tyrimas, atliekamas AU640 analizatoriumi, buvo palygintas su kitu rinkoje esančiu CK-Nac tyrimu. Gauti tokie tiesinės regresijos analizės rezultatai:

$y = 0,992 x + 0,026$	$r = 1,000$	$n = 109$	Mėginio ribos = 22 – 1 903 V/l
-----------------------	-------------	-----------	--------------------------------

PRECIZIŠKUMAS

Šie duomenys gauti AU2700 analizatoriumi, per 20 dienų ištyrus 3 serumo telkinius.

n = 80	Vienos eigos metu		Bendras	
Vidurkis V/l	SN	VK (%)	SN	VK (%)
99	2,35	2,37	4,51	4,55
270	2,7	1,00	8,64	3,20
810	5,22	0,64	26,59	3,28

PAPILDOMA INFORMACIJA

Sistemoje „DxC 700 AU“ reikalaujama, kad kiekvienam reagentų naudojimo būdui būtų suteiktas standartinio formato sutrumpintas uždarojo testo pavadinimas. Uždarojo testo pavadinimas reikalingas, kad būtų galima automatiškai įkelti kiekvieno naudojimo būdo kalibratoriaus informaciją kaip uždarosios sistemos „DxC 700 AU“ dalį. Kiekvienam šio tyrimo naudojimo būdui priskirti uždarytų testų pavadinimai nurodyti toliau pateikiamoje lentelėje.

Testo pavadinimas	Aprašymas
CKN1N	CK NAC (serumo)

Nustatymų lentelių išnašos

Vartotojo nustatytas

* Reikšmės yra nustatytos darbui su V/l vienetais. Jei norite SI vienetų (μkat/l), padalykite iš 60

§ Naudoti tik AB režimu, daugiau nurodymų žr. naudojimo instrukcijoje.

DUOMENŲ PERŽIŪROS

Peržiūrėtas GHS skyrius

Ankstesnės versijos peržiūrų istorija

Ištaisyta teksto prancūzų kalba klaida.

LITERATŪRA

1. Mayne PD, ed. Clinical chemistry in diagnosis and treatment, 6th ed. London: Arnold, 1994:304-310.
2. Thygesen K, Alpert JS et al. Myocardial infarction redefined-A consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. JACC 2000;36:959-969.
3. Stein W. Creatine kinase (total activity). Creatine kinase isoenzymes and variants. In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:71-79.
4. Moss DW, Henderson RA. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999; 657-662.
5. Horder M, Elser R, Gerhardt W, Mathieu M, Sampson E.J. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific division committee on enzymes: Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7. IFCC method for creatine kinase. Appendix A. Eur J Clin Chem Biochem 1991;29(7):435-56.
6. Moss DW, Henderson RA, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1987:376pp.
7. Schumann G, Klauke R. New IFCC reference procedures for the determination of catalytic activity concentrations of five enzymes in serum: preliminary upper reference limits obtained in hospitalised subjects. Clin Chim Acta 2003;327:69-79.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

EC REP Beckman Coulter Ireland Inc., Lismeehan, O'Callaghan's Mills Co. Clare, Ireland (001) 703-527-3887



Beckman Coulter, Inc., 250 S. Kraemer Blvd., Brea, CA 92821 U.S.A.
www.beckmancoulter.com