MEDICHEM
MIDDLE EAST
Clinical Chemistry Reagents
Liquid Stable Reagents

الإجراء اليدوي

البرنامج الآلي متوفر عند الطلب

Cat. No. 17270 R1 1 x 40 ml
من أجل 50 تحليل R2 1 x 10 ml

Creatin Kinase كرياتين كيناز

طريقة حركية غير لونية, تعتمد على فعالية NAC .

كاشف سائل

مبدأ الاختبار:

تعتمد المعايرة الحركية لأنزيم للكرياتينين كيناز بعد تنشيطه بواسطة (NAC) N-Acetylcystein يعتمد على التفاعل التالي:

$$\text{Creatine phosphate} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{CK}} \text{Creatine} + \text{ATP}$$

$$\text{ATP} + \text{D-Glucose} \xrightarrow{\text{HK}} \text{ADP} + \text{D-Glucose-6-phosphate}$$

$$\text{D-Glucose-6-phosphate} + \text{NADP}^{+} \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{D-Gluconat-6-phosphate} + \text{NADPH} + \text{H}^{+}$$

يقوم الكرياتين كيناز كوسيط في تفاعل عكوس بتحويل كرياتين فوسفات و أدينوزين ثنائي الفوسفات (ADP) إلى كرياتين و أدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP), و إضافة أنزيم الهكسوكيناز كوسيط لتفاعل ATP الناتجة مع الغلوكوز لإعطاء ADP و غلوكز-6-فوسفات (G6P). يتأكسد (G6P) بوجود NADP إلى غلوكونات-6-فوسفات مع إرجاع NADP إلى NADPH , و الذي يقاس عند طول موجة 340 نانومتر. معدل الازدياد في الامتصاصية اللونية تتناسب مع فعالية الكرياتين كيناز في العينة.

تركيب الكاشف:

Reagent R1		
N-Acetylcystein(NAC)	30	mmol/L
ADP	5.88	mmol/L
NADP	3	mmol/L
AMP	7.2	mmol/L
Diadenosine (5´) pentaphosphate	10	µmol/L
G-6-PDH (Glucose-6-phosphate-dehydrogenase)	≥ 2800	U/L
Hexokinase	≥ 4000	U/L
Reagent R2		
D-Glucose	40	mmol/L
Creatine phosphate	150	mmol/L
Magnesium acetate	15.3	mmol/L
EDTA	2.6	mmol/L
Stabilizer, preservative		

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

كاشف R1: سائل.
كاشف R2: سائل.
كل الكواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المثبتة على اللصاقة عند التخزين في الدرجة 2– 8 مْ.

محلول العمل: (1+4)
نضيف 4 أحجام من كاشف R1 إلى حجم واحد من كاشف R2. نمزج بلطف.
محلول العمل ثابت مدة 14 يوم في الدرجة 2- 8 مْ.

ملاحظة:
لا تستخدم المحاليل إذا كانت عكرة أو ظهر أثر نمو بكتريا, .
إذا كنت امتصاصية محلول العمل بدون عينة عند طول موجة 340 نانومتر ضد الماء المقطر أكثر من 0.700 فيجب استبعاد الكاشف.

جمع العينة و حفظها:

1 - عينة مصل هي الاختيار الأفضل
2 - يقترح العالم Rosalki إمكانية استخدام بلازما هبارين أو EDTA.
3 - الكرياتين كيناز في المصل ثابت لمدة:
24 ساعة في الدرجة 20-25 مْ و 7 أيام في الدرجة 2-8 مْ و 1 شهر في الدرجة -20 مْ
4 - التمارين الرياضية و النشاط الفيزيائي يمكن أن يعطي قيم مرتفعة من الكرياتين كيناز في المصل

المعايرة:

مصل معياري عام MediCal U Cat .No 15011

ضبط الجودة:

مصل شاهد طبيعي Meditrol N Cat .No 15171
مصل شاهد مرضي Meditrol P Cat .No 15181

الإجراء:

طول الموجة (فوتومتر)	Hg 340nm (334, 365nm)
طول الموجة (سبكتروفوتومتر)	340nm
حجرة القياس	1 cm المسار الضوئي
درجة الحرارة	37 °C
القياس	مقابل الماء المقطر أو الهواء
التفاعل	حركي - متزايد

التحليل:

أحضن محلول العمل في الدرجة 37 مْ قبل الاستعمال

العينة	20µl
محلول العمل	1000 µl
امزج بشكل جيد و احضن مدة 3 دقيقة في الدرجة 37 مْ. أقرأ التغير في الامتصاصية الضوئية كل دقيقة خلال 3 دقائق, احسب تغير الامتصاصية الوسطي (ΔA/min) .	

الحساب:

لحساب فعالية الكرياتين كيناز:

فعالية الكرياتين كيناز (U/L) = ΔA/min X F

عامل المعايرة (F):

طول الموجة	334 nm	340 nm	365 nm
37°C	8252	8095	15000

ملاحظة: من المقترح لكل مخبر (بحسب كفاءة الجهاز المستخدم) أن يستخرج عامل المعايرة (F) الخاص به باستخدام محلول معايرة حسب العلاقة التالية:

$$F = \frac{Conc_{calibrator}}{\Delta A/\min_{\text{Calibrator}}}$$

ملاحظة:
إذا كان من المتوقع حدوث احتشاء العضلة القلبية وكانت النتائج ضمن المجال الطبيعي, فيجب إعادة التحليل بعد 4 ساعات

الخطية:

حتى: 1000 U/L
العينة ذات النتيجة أعلى من 1000 U/L يجب أن تمدد بمحلول كلور الصوديوم 0.9% (محلول فيزيولوجي) بنسبة (1+2) و بإعادة التحليل نضرب النتيجة بـ 3.

التداخلات:

1 - البيليروبين حتى التركيز 20 mg/dl و الخضاب حتى 500 mg/dl تؤثر بقيم مهملة على التحليل
2 - انظر في كتاب Young *et. al.* من اجل جداول إضافية لتداخل المواد.

Medichem Middle East
Aleppo - Syria, E-mail: info@medichem-me.com

Creatine Kinase (CK)

UV kinetic method. Activated NAC

كرياتين كيناز

طريقة حركية غير لونية, تعتمد على فعالية NAC .

التحذيرات:

1 - يمكن للمحلول أن يؤثر على الجاد, تجنب أي تماس مباشر, في حال حدوث ذلك اغسل بكمية وافرة من الماء المقطر.

2 - يحتوي الكاشف على أزيد الصوديوم كمادة حافظة. و من المحتمل أن يرتبط مع أملاح النحاس أو الرصاص ليشكل أزيدات المعادن المتفجرة, لذلك بعد طرح الكاشف المستخدم اغسل بكمية كبيرة من الماء لمنع ارتباط الأزيد.

المجال الطبيعي:

حديثي الولادة	1 يوم	< 712 U/L
	2 – 5 يوم	< 652 U/L
الرّضع	6 يوم – 6 شهر	< 295 U/L
	7 – 12 شهر	< 203 U/L
الأطفال	1 – 3 سنة	< 228 U/L
	4 – 6 سنة	< 149 U/L
7 – 12 سنة	نساء	< 154 U/L
	رجال	< 247 U/L
13 – 17 سنة	نساء	< 123 U/L
	رجال	< 270 U/L
بالغون	نساء	< 145 U/L
	رجال	< 170 U/L
بالغون (ضعف العضلة القلبية)	نساء	> 167 U/L
	رجال	> 190 U/L

المراجع:

1. German clinical chemistry society, J. Clin.Chem. Clin. Biochem. 15, 255 (1977).
2. G. Chemnitz, E. Schmidt, P. U. Koller und E. W. Busch, Dtsch. med. Wschr. 104, 257 (1979).
3. Anon. (1979) j. clin. Chem.. clin. Biochem. 15:249.
4. Suazs, G., et. al. (1976). Clin. Chem.. 22:650.
5. Gruber, W. (1978) Inhibition of creatine kinase activity by Ca^{2+} and reversing effect of EDTA (letter to the editor). Clin. Chem.. 24:177.
6. Rosalki, S.B., J. Lab. Clin. Med. 69:696 (1967).
7. Young, DS., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACC Press, Washington, D.C.
8. German Society for Clinical Chemistry. Recommendations for carrying out ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and gammaglutamyltransferase at 37 0C. J Clin Chem Clin Biochem .1993:31:901-9.
9. Reference procedures for the determination of creatine kinase activity. Clin Chem Clin Biochem 1977: 15:249-54.