

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

كرياتين كيناز Creatin Kinase

طريقة حركية غير لونية، تعتمد على فعالية NAC .

كاشف سائل

المعايرة:
MediCal U Cat .No 15011
مصل معياري عام

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

الإجراء:

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

التحليل:

أحضن محلول العمل في الدرجة 37 م قبل الاستعمال

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

الحساب:

لحساب فعالية الكرياتين كيناز:

$$\text{U/L} = \Delta A/\text{min} \times F$$

عامل المعايرة (F):

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

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

$$F = \frac{\text{Conc}_{\text{calibrator}}}{\Delta A/\text{min}_{\text{Calibrator}}}$$

ملاحظة:

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

الخطية:

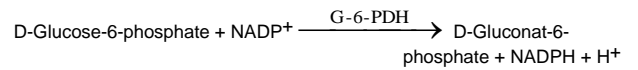
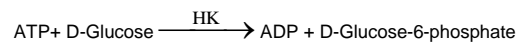
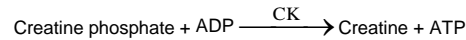
حتى: 1000 U/L
العينة ذات النتيجة أعلى من 1000 U/L يجب أن تمدد بمحلول كلور الصوديوم 0.9% (محلول فيزيولوجي) بنسبة (2+1) وإعادة التحليل لضرب النتيجة بـ 3.

التداخلات:

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

مبدأ الاختبار:

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



يقوم الكرياتين كيناز كوسيط في تفاعل عكوس بتحويل كرياتين فوسفات و أدنوزين ثنائي الفوسفات (ADP) إلى كرياتين و أدنوزين ثلاثي الفوسفات (ATP)، و إضافة أنزيم الهكسوكيناز كوسيط لتفاعل ATP الناتجة مع الجلوكوز لإعطاء ADP و جلوكوز-6-فوسفات (G6P). يتأكسد (G6P) بوجود NADP إلى جلوكونات-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 م.

محلول العمل: (1+4)

نضيف 4 أحجام من كاشف R1 إلى حجم واحد من كاشف R2. مزج بلطف. محلول العمل ثابت مدة 14 يوم في الدرجة 2-8 م.

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 مصلى 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 م. و 7 أيام في الدرجة 2-8 م. و 1 شهر في الدرجة 20- م.
- 4 - التمارين الرياضية و النشاط الفيزيائي يمكن أن يعطي قيم مرتفعة من الكرياتين كيناز في المصل.

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:

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

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 Ca²⁺ 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, D.S., 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 OC. 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.