



# CK-NAC

(kinetic DGKC-IFCC Method)

- نمونه سرم یا پلاسما هیپارینه
- پس از نمونه گیری، سرم و پلاسما باید در اسرع وقت از گلبول های قرمز جدا شوند. از استفاده از ترکیبات ضد انعقاد مانند فلوراید، سیترات و اگزالات خودداری کنید.
- CKNAC در نمونه در دمای °C 2-8 به مدت 7 روز در دمای °C 20- به مدت 30 روز پایدار است.
- از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.

## تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R2 و R1
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترلهای های نرمال و پانژن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر/اتوانالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

## روش انجام آزمایش

### پارامترهای دستگاهی

340(330-370)nm	طول موج
37°C	دما
1 cm	طول مسیر عبور نور
Kinetic	نحوه خوانش

### نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف

نمونه	استاندارد	بلانک
معرف (R1) 200µL	200µL	200µL
آب مقطر -	-	10µL
نمونه 10µL	-	-
استاندارد -	10µL	-

مقادیر بالا مخلوط شده و دو دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود. سپس R2 اضافه شود.

معرف (R2) 50µL	50µL	50µL
----------------	------	------

مقادیر بالا مخلوط شده و پس از دو دقیقه انکوبه کردن در دمای 37°C جذب نمونه (AS) نسبت به جذب نمونه بلانک در طی 3 دقیقه اندازه گیری شود.  $\Delta A/min$  اندازه گیری شود

تمامی پارامترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی های هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.

## محاسبات

$$CKNAC (U/l) = \Delta E / min * 6507$$

## هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی Creatin kinase موجود در سرم و پلاسما به روش Kinetic DGKC-IFCC استفاده می شود.

## اهمیت بالینی

اندازه گیری CK به منظور تشخیص و درمان myocardial infraction و بی‌ماهای عضلانی مانند Duchenne-type dystrophy انجام می شود.

## اساس اندازه گیری

کراتین کی‌ناز به عنوان کاتالی‌زور در واکنش بین کراتین فسفات و ADP عمل می کند، که محصول این واکنش کراتین و ATP است. که در حضور گلوکوز و هگزوکینیاز به ADP و glucose-6-phosphate تبدیل می شود. در مرحله بعد در حضور glucose-6-phosphate dehydrogenase تشکیل ترکیب glucose-6-phosphogluconat می دهد. در این واکنش  $NADP^+$  به NADPH کاهش می یابد. فعالیت CK در نمونه با اندازه گیری تغییرات جذب، طی واکنش کاهش  $NADP^+$  به NADPH محاسبه می شود.

## معرف ها

R1	Good buffer	50 mmol/l
	AMP	10mmol/l
	NADP	20mmol/l
	hexokinase	100 U/l
	MgCl2	120 mmol/l
R2	Good buffer	50 mmol/l
	ADP	10mmol/l
	G6P-DH	150U/l
	Creatine Phosphate	50mmol/l

معرف ها مایع و آماده مصرف است.

## پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای °C 2-8 نگهداری شود.
- بعد از باز کردن درب ویال R1 و R2، در صورت دور نگهداشتن از آلودگی، جلوگیری از تبخیر، قرار ندادن در معرض نور مستقیم و نگهداری در یخچال ۹۰ روز پایدار خواهد بود.
- در صورت مخلوط کردن دو معرف R1 و R2، این محلول به مدت ۲۰ روز در دمای یخچال پایدار خواهد بود.

## نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- معرف ها حاوی ماده سدیم آزید به عنوان نگهدارنده هستند. از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و غشاء مخاطی بپرهیز کنید. موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها (MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.

## جمع آوری و آماده سازی نمونه



# CK-NAC

(kinetic DGKC-IFCC Method)

## ۵- بررسی تداخلات احتمالی

آنالیت های زیر درمقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی دهند.

Bilirubin	≤ 25mg/dl
Ascorbic Acid	≤ 25mg/dl
Hemoglobin	≤ 200mg/dl
Triglycerides	≤ 800mg/dl

## کنترل کیفیت

هر بار که کی-ت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر می-انگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.

## منابع

1. Dr. Hans Bisswanger, Enzyme Kinetics, second Edition, Wiley-VCH 2008
2. Stein, W. "Creatine kinase (total activity), creatine kinase isoenzymes and variants". In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. TH-Books Verlagsgesellschaft; p. 71-80, (1998).
3. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
3. Friedrich Lottspeich, Joachim Engels, Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology, Wiley-VCH 2018

## مقادیر مرجع

Women	24 – 170 U/l
Men	24 – 195 U/l
Children	
Babies	468 – 1200 U/l
≤ 5 days	195 – 700 U/l
< 6 months	41 – 330 U/l
> 6 months	24 – 229 U/l

هر آزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بی-مارانش تعین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج CKNAC باید تاربخچه پزشکی بی-مار، آزمایشات و دی-گریافته ها بطور همزمان بررسی شود.

## پارامترهای کارایی کی-ت

### ۱- دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

برای بررسی نمونه ای با غلظت بالا (2000 mg/dl) در سطوح غلظتی متفاوت رقیق شد. نمونه سه بار اندازه گیری و محدوده خطی 10-900 U/l تعیین شد. ضریب همبستگی (R) ۰.۹۹ و انحراف نسبی بین غلظت اندازه گیری شده و مقدار تخمینی کمتر از ۱۰٪ بود. نمونه های با غلظت بالاتر باید رقیق شوند.

### ۲- حساسیت (Sensitivity)

حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 10 U/l

### ۳- دقت (Precision)

#### - اینترا-اسی - تکرارپذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Intra-Assay Precision (within-run) n=20			
CV%	SD	می-انگین (mg/dl)	نمونه
1.50	2.27	150.75	Level 1
0.86	3.86	450.85	Level 2

#### - اینترا-اسی - دقت

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Inter-Assay Precision (between-run) n=20/day			
CV%	SD	می-انگین (mg/dl)	نمونه
1.92	2.93	152.38	Level 1
0.20	0.92	449.18	Level 2

### ۴- صحت (مقایسه روش ها)

مقایسه ای بی-ت شرکت بهان با یکی از کی-تهای معتبر بازار بر روی ۶۰ نمونه نتایج زی-ر بدست آمد.

ضریب همبستگی (R): 0.99

$$y = 0.9618x + 8.0469$$