

# КРЕАТИНКИНАЗА ДиаВетТест



## Набор ветеринарных диагностических реагентов для определения концентрации креатинкиназы в крови животных.

Креатинкиназа (КФК, КК) - фермент, катализирующий обратимую реакцию превращения креатинфосфата в креатин с участием АДФ, который, превращаясь в АТФ, является источником энергии для мышечного сокращения. Содержится преимущественно в скелетной мускулатуре, миокарде, а также в гладких мышцах и головном мозге. Креатинкиназа обеспечивает потребность в большом количестве энергии в короткие интервалы времени, например, обеспечивая энергией мышечные сокращения. Активность КФК ингибируется тироксином. У молодых животных активность креатинкиназы выше, чем у взрослых животных, что связано с интенсивным ростом и участием в этом процессе тканей, богатых этим ферментом - мышечной и нервной. У самок активность КК несколько ниже, чем у самцов. При повреждении клеток происходит высвобождение КК и поступление её в кровь. Так, при мышечной дистрофии уровень КФК в сыворотке крови может возрасти в 50 раз. Определение креатинкиназы используется в диагностике и мониторинге инфаркта миокарда и миопатий. Увеличение активности КФК может быть обнаружено через 4 часа после инфаркта, максимум достигается через 12 - 24 часа, снижение уровня происходит через 3 - 4 дня.

### Показания к исследованию

- Повреждения скелетных мышц (травмы, операции, миодистрофии и др.).
- Заболевания миокарда.
- Онкологические заболевания.

### Информация для заказа

Кат. №	Состав, мл		Объём, мл
	Реагент 1	Реагент 2	
DV 782 001	2x68	2x17	170
DV 782 002	6x68	6x17	510

### Метод

Оптимизированный УФ тест. Креатинкиназа катализирует реакцию образования АТФ в присутствии креатинфосфата и АДФ. Гексокиназа при наличии АТФ катализирует реакцию фосфорилирования глюкозы с образованием глюкозо-6-фосфата. При наличии глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы реакция дегидрирования глюкозо-6-фосфата сопровождается образованием НАДФН. Скорость синтеза НАДФН, сопровождающаяся повышением оптической плотности образца, прямо пропорциональна активности креатинкиназы и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

### Аналитические характеристики

- Линейность в диапазоне от 20 до 1000 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 15 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 5%.

При активности креатинкиназы в сыворотке крови более 1000 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту  $\Delta A$ /мин не должно превышать 0,25) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

### Контроль качества

При работе на биохимических анализаторах рекомендуется использовать мультикалибратор TruCal U фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P (метод DGKC, IFCC 37 °C), DiaSys, Германия.

### Подготовка животного к исследованию

У моногастричных животных кровь берут до кормления в утренние часы, у жвачных – утром, через 4 часа после кормления. Можно пить воду. Встряхивание крови в процессе взятия, при хранении, транспортировке может вызвать гемолиз, что может привести к завышению значений КФК.

### Исследуемые образцы

Негемолизованный сыворотка крови. Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

### Меры предосторожности

1. В реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые.
2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами.

### Подготовка к анализу

#### Монореагентная схема — запуск реакции образцом.

Приготовление рабочего реагента: смешать 4 объема реагента 1 и один объем реагента 2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования. Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре 2-8°C не более 3 недель или при комнатной температуре (15-25°C) не более 2 суток.

#### Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

## Проведение анализа

Перед проведением анализа Рабочий реагент следует нагреть до температуры  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в течение 10 мин. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице.

<b>Монореагентная схема – запуск реакции образцом.</b>				<b>Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.</b>			
Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба	Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Образец/ Мультикалибратор	-	40	40	Образец/ Мультикалибратор	-	40	40
Рабочий реагент	-	1000	1000	Реагент 1	-	1000	1000
Пробу перемешать и инкубировать в кювете с длиной оптического пути 10 мм при температуре $37^\circ\text{C}$ в течение 1 мин. Измерить оптическую плотность пробы (A1) при температуре $37^\circ\text{C}$ при длине волны 340 нм против воздуха, включить секундомер и через 1 минуту (точно!) аналогично измерить оптическую плотность пробы (A2). Рассчитать изменение оптической плотности пробы в минуту: $\Delta A/\text{мин} = A1 - A2$ .				Перемешать, инкубировать 3 мин, затем добавить:			
				Рабочий реагент	-	250	250
				Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A <sub>1</sub> ) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A <sub>2</sub> ) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм, при $37^\circ\text{C}$ , относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.			

**Примечание.** При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы (соотношение сыворотки крови к рабочему реагенту составляет 1:25).

**Адаптации для Вашего анализатора запрашивайте дополнительно.**

### Расчёты по фактору:

Из значений оптической плотности вычислить  $\Delta A/\text{мин}$  и умножить на соответствующий фактор из нижеследующей таблицы:

$\Delta A/\text{мин} \times \text{фактор} = \text{активность КФК [Е/л]}$ .

334 нм	4207
340 нм	4127
365 нм	7429

**По мультикалибратору:** Активность КФК [Е/л] =  $\frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{образца}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{мультикалибратора}}} \times \text{Активность КФК в мультикалибраторе [Е/л]}$

## Интерпретация результатов исследования

**Единицы измерения:** Ед/л.

**Референсные значения:** собаки – 40,0-254,0 Ед/л, кошки – 59,0-527,0 Ед/л, лошади – 113,0-333,0 Ед/л, крупный рогатый скот – 44,0-228,0 Ед/л, свиньи – 65,7-489,4 Ед/л.

**Повышение уровня креатинкиназы:**

- Повреждение скелетных мышц (травмы, операции, мышечные дистрофии, полимиозиты и др.).
- Значительная физическая нагрузка.
- Шоковое состояние.
- Инфаркт миокарда.
- Гипотиреоз.
- Гиперкортицизм.
- Злокачественные опухоли.
- Тахикардия, застойная сердечная недостаточность, миокардит.
- Травмы, операции.

**Понижение уровня креатинкиназы** диагностического значения не имеет.

## Транспортирование, условия хранения и эксплуатации набора

Транспортирование и хранение наборов должно производиться при температуре  $2-8^\circ\text{C}$  в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается транспортирование и хранение наборов при температуре до  $25^\circ\text{C}$  не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

**Срок годности набора – 12 месяцев.**

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре  $2-8^\circ\text{C}$  в защищенном от света месте в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент можно хранить в защищенном от света месте при температуре  $2-8^\circ\text{C}$  не более 3 недель или при комнатной температуре ( $15-25^\circ\text{C}$ ) не более 2 суток.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

## Обезвреживание отходов

Утилизацию отходов после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами.

## Литература

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013 – 416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.

5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.

6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М. : Софион. 2007, 456 с.

**Изготовитель:** АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Грузовая, д. 1а.

По вопросам, касающимся качества набора (**КРЕАТИНКИНАЗА DiaVerТест**), следует обращаться в [ООО «ДИАКОН-ВЕТ»](#) по адресу: 142290, г. Пушкино, Московской обл., ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-39; доб. 56-24/55-97.