



Інструкція з використання набору реагентів для визначення загальної активності креатинкінази МВ в сироватці, плазмі крові КРЕАТИНКІНАЗА МВ-кін. СпЛ

IN VITRO

P1	2 x 30 мл
P2	2 x 7.5 мл

Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 75 визначень з урахуванням холостих проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

Креатинкіназа (КК) складається з двох субодиниць: М (м'язова) і В (серцева), з яких утворюється 3 ізоферменти, які по органічній приналежності діляться: на КК-ВВ-мозок, КК-МВ-серцевий м'яз, скелетні для КК-ММ м'язи. КК-МВ складається з двох субодиниць КК-М і КК-В.

Субодиниці М і В імунологічно різні. Даний тест включає вимірювання активності КК в присутності антитіл до КК-М мономеру. Ці антитіла повністю інгібують активність КК-ММ і наполовину активність КК-МВ, не діючи на В-субодиницю, КК-МВ і КК-ВВ. Потім за допомогою методу на КФК визначається активність КК-В. Активність ізофермента КК-МВ визначається множенням на 2 активності КК-В.

Клінічне значення

Креатинкіназа (КК) - фермент, що здійснює перетворення фосфокреатину з утворенням креатину і АТФ, який необхідний для м'язового скорочення. Загальна активність креатинкінази складається з активності ізоформ ферменту: ізоформа КК-ВВ в основному присутня в тканинах мозку, легенів, в шлунку; ізофермент КК-ММ характерний для м'язової тканини, а ізоформа КК-МВ сконцентрована в тканинах серця. При ураженні серцевого м'яза ця ізоформа виходить з клітин серця в кров'яне русло, що супроводжується збільшенням активності ізоферменту в крові. Величина збільшення активності КК-МВ відповідає величині ураження серцевого м'яза при інфаркті міокарда, тому відноситься до ранніх показників ураження серцевого м'яза. Підвищення активності починається через 4-8 годин після інфаркту, досягає піку через 4-12 годин. Термін нормалізації активності може займати 24 - 48 годин. Визначення активності КК-МВ проводять одночасно із визначенням загальної активності креатинкінази. Після цього розраховується співвідношення у відсотках, яке в нормі не повинно бути більше 6%. При інфаркті активність КК-МВ коливається від 6 до 25%. Деяке збільшення активності КК-МВ може спостерігатися при гіпотиреозі, захворюваннях м'язів.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

- Реагент 1.** Буфер: мідазоловий буфер - 125 ммоль/л; D-глюкоза - 25 ммоль/л; N-ацетил-L-цістеїн - 25 ммоль/л; магнію ацетат - 1.25 ммоль/л; НАДФ - 2.52 ммоль/л; ЭДТА - 2.02 ммоль/л; гексокіназа > 6800 Од/л; антитіла поліклональні до КК-М (вівці), інгібуюча здатність до 2000 Од/л КК-ММ.
- Реагент 2.** Ензими: АДФ - 15.2 ммоль/л; АМФ - 25 ммоль/л; 2-аденозин-5-пентафосфат - 103 ммоль/л; глюкоза-6-фосфат дегідрогеназа $\geq 8\ 800$ Од/л; креатин фосфат - 250 ммоль/л.
- Інструкція з використання.
- Паспорт.

Аналітичні характеристики

- Лінійність вимірювального діапазону: 5 - 600 Од/л.
Відхилення від лінійності не перевищує 5%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 г/л та помножте результат на два.
- Чутливість не менш 2 Од/л.
- Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для досліджування

Сироватка крові або гепаринізована плазма. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Стабільність зразків 7 днів при 2-8°C. Активність КК-МВ зменшується на 10% після 24 год. при 4°C або 1 год. при 25°C.

Перелік необхідного устаткування:

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 340 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Водяна баня з термостатом з температурою 25°C / 30°C / 37°C.
- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Приготування робочого реагенту **РР**: змішати 4 об'єми **Р1** та 1 об'єм **Р2**.

РР стабільний 2 тижня при 2-8°C або 24 годин при кімнатній температурі 15-25°C.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 340 нм
кювета з товщиною оптичного шару 1 см
температура 25°C / 30°C / 37°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води або повітря.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

РР, мл	1
Зразок, мл	0.04

4. Змішати та інкубувати 10 хв. при 37°C на водяній бані.

5. Виміряти первинну оптичну щільність (E1) дослідного зразка. Включити секундомір і виміряти E2 через 5 хвилин.

6. Підрахуйте різницю між оптичними щільностями $\Delta E = E2 - E1$.

Прим. Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

Розрахунок результатів

$\Delta E \times 825 = \text{Од/л КК-В}$ $\Delta E \times 1651 = \text{Од/л КК-МВ}$

Одна міжнародна одиниця (МОд) це кількість ферменту, який перетворює один мкмоль субстрату за хвилину у стандартних умовах. Концентрація виражається в одиницях на літр зразка (Од/л).

Для коректування результатів при інших температурах помножити на:

Температури вимірювань	Чинник переходу		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.53	2.38
30°C	0.65	1.00	1.56
37°C	0.42	0.64	1.00

Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Підозра на ушкодження міокарда полягає в трьох наступних факторах:

	25°C	30°C	37°C
Креатинкіназа МВ	>10 Од/л	>15 Од/л	>24Од/л
Креатинкіназа загальна			
чоловіків до	80 Од/л	130 Од/л	195 Од/л
жінок до	70 Од/л	110 Од/л	170 Од/л

$$\frac{\text{КК - МВ}_{\text{активність}}}{\text{КК заг.}_{\text{активність}}} \times 100 = 6 - 25\% \text{ КК - МВ активності зразка}$$

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СпЛ Контроль НОРМА», «СпЛ Контроль ПАТОЛОГІЯ» («Лабораторія Гранум», Україна); «КОНТРОЛЬ НОРМА Biog», «КОНТРОЛЬ ПАТОЛОГІЯ Biog» (Spinreact, S.A. Іспанія «ERBA NORM, RATH» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, при зберіганні їх щільно закритими при +2-8°C, в захищеному від світла місці і уникаючи забруднення під час їх використання.

Не використовуйте реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).

Після відкриття, реагенти стабільні протягом 60 днів, за умови, що вони будуть відразу ж закрити після кожного відкриття і будуть зберігатися при +2-8°C.

Ознаки погіршення реагентів

- Наявність частинок і каламутності.
- Бланк поглинання (E) при 340 нм ≥ 1.60 .



ТОВ «Лабораторія Гранум»
61001, м. Харків,
вул. Франківська, 14
тел. (057) 768-07-14

Паспорт

Набір реагентів для визначення кількості
загальної активності креатинкінази МВ
в сироватці або плазмі крові
КРЕАТИНКІНАЗА МВ-кін. СпЛ

IN VITRO

Серія **27-807-1**

Дата виготовлення **2018.10.10**

Термін придатності **2019.10.10**

Зберігати при 2-8°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 20.5-41524713-05:2018	Результати контролю
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	Р1. Буфер: Імідазоловий буфер - 125 ммоль/л; D-глюкоза - 25 ммоль/л; N-ацетил-L-цістеїн - 25 ммоль/л; магнію ацетат - 1.25 ммоль/л; НАДФ - 2.52 ммоль/л; ЕДТА - 2.02 ммоль/л; гексокіназа >6800 Од/л, антитіла поліклональні до КК-М (вівці), інгібуюча здатність до 2000 Од/л КК-ММ.	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.2	Р2. Ензими: АДФ - 15.2 ммоль/л; АМФ - 25 ммоль/л; 2-аденозин-5-пентафосфат - 103 ммоль/л; глюкоза-6-фосфат дегідрогеназа ≥8800 Од/л, креатинфосфат - 250 ммоль/л.	рідкий прозорий розчин	відповідає
2. Показники правильності визначення			
2.1	Чутливість не менш, мкмоль/л	2	відповідає
2.2	Лінійність в діапазоні концентрацій, мкмоль/л	5-600 ± 5 %	відповідає
2.3	Коефіцієнт варіації	± 5 %	відповідає
3. Комплектація			
3.1	Р1	2 фл. х 30 мл	відповідає
3.2	Р2	2 фл. х 7.5 мл	відповідає

Набір розрахований на 75 визначень з урахуванням холостих проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Висновок ВТК: Набір протестован на контрольному матеріалі згідно системи контролю якості ТОВ «Лабораторія Гранум».

Термін зберігання – 12 місяців з дня виготовлення.

Відповідає вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro.