



СР	9094/2009
	09.09.2011

Погоджено
Голова комісії з проведення реорганізації
Держлікінспекції МОЗ України
А.Д. Захараш
09 вересня 2011 р.

Інструкція
по використанню набору реагентів
для визначення загальної активності
креатинкінази МВ в сироватці, плазмі крові
КРЕАТИНкіНАЗА МВ-кін. «СпЛ»

IN VITRO

P1	1 x 60 мл
P2	1 x 15 мл

Зберігати при 2-8°C

Принцип методу

Креатинкіназа (КК) складається з двох субодиниць: М (м'язова) і В (сердечна), з яких утворюється 3 ізоферменти, які по органічній приналежності діляться: на КК-ВВ-мозок, КК-МВ-сердечний 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 теств ключає вимір активності КК в присутність антитіл до КК-М мономеру. Ці антитіла повністю інгібують активність КК-ММ і наполовину активність КК-МВ, не діючи на В-субодиницу, КК-МВ і КК-ВВ. Потім за допомогою методу на КФК визначається активність КК-В. Активність ізофермента КК-МВ визначається множенням на 2 активність 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 тканини мозку, легенів, в шлунку; ізофермент КК-ММ характерний для м'язової тканини, а ізоформа КК-МВ сконцентрована в тканини 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 загальною активністю 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.** 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; 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.** 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: від нижньої межі від 5 Од/л до 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 помножьте 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 лазня з термостатом з температурою 25°C / 30°C / 37°C.
- Загальне лабораторне обладнання.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Приготування робочого реагенту **РР**:

змішайте 4 об'єми **Р1** + 1 об'єм **Р2**.

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

Проведення аналізу

- Умови вимірювання:

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

- Налаштувати прибор на нуль відносно дистильованої води або повітря.
- Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

РР, мл	1.0
Зразок, мкл	40

- Змішати та інкубувати 10 хв. при 37°C. на водняній лазні
- Виміряти первинну оптичну щільність (E1) дослідного зразка. Включити секундомір і виміряти E2 через 5 хвилин.
- 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

$\Delta E \times 825 = \text{Од/л СК-В}$

$\Delta E \times 1651 = \text{Од/л СК-МВ}$

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

Нормальні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користатися 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	>24 Од/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: «SPINTROL N, P» (Іспанія), контрольні сироватки «Lyoporm HUM N, P» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща).

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.

Після відкриття, реагент стабільен протягом 60 днів, за умови, що він буде відразу ж закритий після кожного відкриття і буде зберігатися при +2-8°C.

Ознаки погіршення реагентів

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



	9094/2009
СР	09.09.2011

ТОВ «СпайнЛаб»,
61050, м. Харків
вул. Франківська, 14
тел. (057) 768-07-14

Паспорт
Набір реагентів для визначення
загальної активності креатинкінази МВ в сироватці, плазмі крові
КРЕАТИНКІНАЗА МВ-кін. «СпЛ»

IN VITRO

Серія **27-209-1**

Дата виготовлення **16.10.2012**

Термін придатності **16.10.2013**

Зберігати при 2-8°C

№ /п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-36035842-001:2009	Результат и контролю
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	Р1. 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. 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	1 фл. х 60 мл	відповідає
3.2	Р2	1 фл. х 15 мл	відповідає

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-36035842-001:2009.