

УВАГА! ЗМІНА ЧИННИКА ПЕРЕРАХУНКУ



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

IN VITRO

Зберігати при 2-8 °С

Тільки для професійного використання.

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 h (год) після інфаркту, досягає піку через 4-12 h (год). Термін нормалізації активності може займати 24 - 48 h (год). 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 mmol/l (ммоль/л); D-глюкоза - 25 mmol/l (ммоль/л); N-ацетил-L-цістеїн - 25 mmol/l (ммоль/л); магнію ацетат - 1.25 mmol/l (ммоль/л); НАДФ - 2.52 mmol/l (ммоль/л); ЭДТА - 2.02 mmol/l (ммоль/л); гексокіназа > 6800 U/l (Од/л); антитіла поліклональні до КК-М (вівці), інгібуюча здатність до 2000 U/l (Од/л) КК-ММ.
- Реагент 2.** Ензими: АДФ - 15.2 mmol/l (ммоль/л); АМФ - 25 mmol/l (ммоль/л); 2-аденозин-5-пентафосфат - 103 mmol/l (ммоль/л); глюкоза-6-фосфат дегідрогеназа \geq 8 800 U/l (Од/л); креатин фосфат - 250 mmol/l (ммоль/л).
- Інструкція з використання.
- Сертифікат якості.

Аналітичні характеристики

- Лінійність вимірювального діапазону: 5 - 600 U/l (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 g/l (г/л) та помножьте результат на два.
- Чутливість не менш 5 U/l (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 h (год) після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Стабільність зразків 7 d (доб) при 2-8 °С. Активність КК-МВ зменшується на 10% після 24 h (год) при 4 °С або 1 h (год) при 25 °С.

Перелік необхідного устаткування:

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 340 nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 cm (см).
- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

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

РР стабільний 2 wk (тижд) при 2-8 °С або 24 h (год) при кімнатній температурі 15-25 °С.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 340 nm (нм)
кювета з товщиною оптичного шару 1 cm (см)
температура 25 °С /30 °С /37 °С

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, ml (мл)	1
Зразок, ml (мл)	0.04

4. Змішати та інкубувати 10 min (хв) при 37 °С на водяній бані.

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

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

$$\Delta E \times 825 = U/l \text{ (Од/л) КК-В}$$

$$\Delta E \times 1651 = U/l \text{ (Од/л) КК-МВ}$$

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

Для коректування результатів при інших температурах помножити на:

Температури вимірювань	Чинник переходу		
	25 °С	30 °С	37 °С
25 °С	1.00	1.53	2.38
30 °С	0.65	1.00	1.56
37 °С	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 °С	30 °С	37 °С
Креатинкіназа МВ	>10 U/l (Од/л)	>15 U/l (Од/л)	>24U/l (Од/л)
Креатинкіназа загальна			
чоловіків до	80 U/l (Од/л)	130 U/l (Од/л)	195 U/l (Од/л)
жінок до	70 U/l (Од/л)	110 U/l (Од/л)	170 U/l (Од/л)

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

Відтворюваність

Значення, U/l (Од/л)	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
	33,7	166,5	31,3	161,0
SD	1,00	3,76	1,19	3,47
CV, %	2,96	2,26	3,81	2,15

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати:

Коефіцієнт кореляції (r^2): 0,999

Рівняння регресії: $y=0,976x - 0,269$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Білірубін менш 600 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л), гемоглобін до 1,25 g/l (г/л) и ліпіди до 2,5 g/l (г/л), не впливають у 90% випадків.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи СпЛ Контроль КК-МВ. Рівень 1 («ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) або контрольний матеріал іншого виробника. Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8 °С. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Після відкриття, реагенти стабільні протягом 60 d (доб), за умови, що вони будуть відразу ж закрити після кожного відкриття і будуть зберігатися при 2-8 °С.

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.

2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.

3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25 °С.

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37 °С не більше 72 h (год).

Ознаки погіршення реагентів


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

Гарантії виробника









1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013 р. при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

Комплектація

	REF1.023
Вміст	75 визн.
P1	2 x 30 ml (мл)
P2	2 x 7.5 ml (мл)

 ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.
Тел./факс: (057) 752-32-31, www.granum.ua

Символи на продукції

 Виробник	Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер серії
 IVD Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне обмеження
 Берегти від сонячного світла	 Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів	 REF Каталогний номер	