



Инструкция и адаптационная методика по применению набора «Креатинкиназа-МВ»

Клиническое значение:

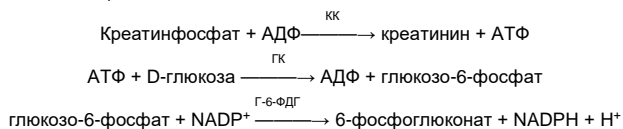
Креатинкиназа МВ (КК-МВ) состоит из двух субъединиц – В (мозговая) и М (мышечная). Содержится исключительно в миокарде. В сыворотке, как правило, содержится в низких концентрациях. При остром инфаркте миокарда происходит повреждение миокарда, что приводит к повышению активности креатинкиназы-МВ в крови спустя 4-6 часов после начала боли в груди. Максимальная активность фермента наблюдается между 12 - 24 часами, затем (в течение 48 часов) происходит снижение до нормального уровня.

Диагноз не должен ставиться на основании одного теста. Необходимо учитывать результаты других исследований и клиническую картину.

Принцип метода:

Метод определения активности МВ-фракции креатинкиназы основан на ингибировании ММ-фракции специфическими антителами и дальнейшем определении активности общей креатинкиназы.

Кинетический метод определения активности общей креатинкиназы (КК) (согласно рекомендаций IFCC и DGKC) основан на следующей последовательности ферментативных реакций:



Скорость образования никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADPH) пропорциональна каталитической активности оставшейся в образце после ингибирования креатинкиназы, что измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Набор предназначен для использования на ручных, полуавтоматических и автоматических биохимических анализаторах.

Состав набора*:

Реагент 1	Реагент 2	Калибратор МВ / Контроль МВ (до 2 уровней)
Имидазол буфер рН 6,7 ± 0,1; D-глюкоза; N-ацетил-L-цистеин; NADP; Гексокиназа (ГК); Никотинамидадениндинуклеотид фосфат (NADP); ЭДТА; Магния ацетат; античеловеческие поликлональные СК-М антитела, достаточные для активности 2 000 Е/л СК-ММ	Креатинфосфат; Аденозиндифосфат (АДФ); Аденозинмонофосфат (АМР) ди-аденозин-5-пентафосфат; Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ)	Лиофилизированная сыворотка крови человека. Активность указана на этикетке и паспорте качества
40 мл	10 мл	Наличие и объем в наборе по желанию заказчика
80 мл	20 мл	Наличие и объем в наборе по желанию заказчика
96 мл	24 мл	Наличие и объем в наборе по желанию заказчика
160 мл	40 мл	Наличие и объем в наборе по желанию заказчика
240 мл	60 мл	Наличие и объем в наборе по желанию заказчика

* - объем реагентов во флаконе и количество флаконов может варьироваться в зависимости от каталожного номера.

По желанию заказчика набор может поставаться с или без калибровочного и контрольного материала.

Подготовка реагентов к применению и их стабильность:

Запечатанные флаконы стабильны до окончания срока годности при хранении при 2-8°C (18 месяцев от даты производства).

При работе с отдельными реагентами: Реагент 1 и Реагент 2 готовы к применению. После вскрытия флакона стабильны при 2°C - 8°C в течение двух месяцев. Хранить в темном месте. Флаконы стабильны на борту анализатора при 2°C - 8°C в течение одного месяца.

При работе с Рабочим реагентом: для приготовления Рабочего реагента Реагент 1 и Реагент 2 смешивают в соотношении 4:1. Рабочий реагент стабилен при 2°C - 8°C в течение 7 дней, при 15°C - 25°C - 12 часов. Хранить в темном месте.

За 30 минут до применения Калибратор растворяют в 2 мл дистиллированной воды. После разведения калибратор стабилен 8 часов при температуре от 15°C до 25°C, 5 дней – при температуре от 2°C до 8°C или 1 месяц - при температуре от минус 25°C до минус 15°C.

За 30 минут до применения Контроль растворяют (см. объем на этикетке) в 2 (5) мл дистиллированной воды. Аккуратно перемешивают до полного растворения. Использовать не ранее, чем через 10 (30) минут после растворения. Стабильность Контроля – 10 (5) дней при температуре от 2°C до 8°C или 6 месяцев (1 месяц) – при температуре минус 20°C.

Признаки непригодности реагентов для применения:

- наличие в растворе реагента мутности;
- оптическая плотность Рабочего реагента (длина волны 340 нм, длина оптического пути 1 см) $\geq 1,6$.

Меры предосторожности:

Реагенты, входящие в состав набора, предназначены только для диагностики *in vitro*. Не принимать внутрь.

Калибратор и контроль креатинкиназы-МВ изготовлены на основе сыворотки крови человека, которая проверена на отсутствие HBsAg, HCV, антител к ВИЧ (1/2). Однако при работе с ним необходимо обращаться как с потенциально опасным.

Все компоненты в используемых концентрациях не токсичны. При работе с наборами реагентов следует применять средства индивидуальной защиты согласно ГОСТ 12.4.103. Допускаются к применению перчатки медицинские одноразовые и халаты медицинские, отвечающие действующим ТНПА Республики Беларусь и имеющие документы, подтверждающие качество и безопасность в области применения.

При работе с наборами следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СНИП «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 2 от 6 января 2017 г.

Утилизация не использованных либо с истекшим сроком годности реагентов проходит в соответствии с СНИП «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь №14 от 7 февраля 2018 г.

Образцы и их стабильность:

Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови. Стабильность образцов – 4 часа при комнатной температуре, 2 дня при 2°C - 8°C, 1 месяц при минус 20°C. Беречь от прямых солнечных лучей.

Активность креатинкиназы-МВ падает на 10% каждый день при 2°C - 8°C или каждый час при 15°C - 25°C.

Методика для ручных и полуавтоматических анализаторов.

Необходимое, но не предоставляемое оборудование:

- спектрофотометр с термостатируемым кюветным отделением, позволяющий проводить измерения при длине волны 340 нм и длиной оптического пути 1 см;
- дозаторы с наконечниками, позволяющие отбирать 0,04 мл, 1 мл, 0,02 мл, 0,5 мл;
- секундомер.

Ход анализа:

Условия проведения анализа:

- длина волны – 340 нм;
- длина оптического пути – 1 см;
- температура - 37°C;

Анализатор обнуляет относительно Рабочего реагента. Рабочий реагент перед анализом прогревают до 37°C, так как активность фермента зависит от температуры.

Внести в кюветы:	Макрометод	Полумикрометод
Рабочий реагент, мл	1	0,5
Калибратор/Образец, мл	0,04	0,02

Перемешивают и инкубируют 4 минуты. Измеряют оптическую плотность каждой смеси (A₁) и еще через 3 минуты измеряют (A₂).

Настройки для спектрофотометров СОЛАР:

Лагфаза – 240 сек

Фаза – 180 сек

Количество фаз – 1.

Результаты:

Для каждого образца рассчитывают изменение оптической плотности за 3 минуты: $\Delta A = (A_2 - A_1)$.

Активность креатинкиназы-МВ в образце рассчитывают относительно калибратора по формуле:

$$\text{активность кал} \cdot \text{активность обр. (Е/л)} = \Delta A_{\text{обр}} \cdot \text{АКал}$$

Для расчета относительной активности креатинкиназы-МВ используют формулу:

$$100\% \times \text{Активность КК-МВ} / \text{Активность КК}$$

Калибровка: В качестве калибратора рекомендуем использовать калибратор КК-МВ производства Диасенс, калибратор производства Randox (Великобритания) или производства Spinreact (Испания).

Контроль качества:

Контроль качества измерений проводится с использованием контрольного материала двух уровней. При непрохождении контролей проводится перекалибровка. После перекалибровки следует снова протестировать контроли. В случае непрохождения контроля качества после перекалибровки, необходимо проверить исправность анализатора и наличие признаков непригодности реагентов.

Каждая лаборатория проводит контроль качества согласно своей утвержденной схеме.

В качестве контрольного материала можно использовать контрольные сыворотки, аттестованные по используемому методу. Рекомендуем применять для контроля качества контроль производства Диасенс, контроль производства Randox (Великобритания), Spinreact (Испания), Cormay (Польша).

Референсные значения:

Для диагностики инфаркта миокарда необходимо учитывать три фактора:

1. Активность креатинкиназы-МВ ≥ 24 Е/л (37°C).
2. Активность общей креатинкиназы

Мужчины	≤ 195 Е/л
Женщины	≤ 170 Е/л

3. $100\% \times \text{активность КК-МВ} / \text{активность КК} = 6\% - 25\%$.

Приведенные референсные значения ориентировочные: каждая лаборатория должна сама устанавливать свои референсные значения.

Интерференция: Гемолиз, гемоглобин > 6 г/л, триглицериды > 8 ммоль/л. Беречь от прямого солнечного света.

Аналитические характеристики:

Чувствительность: 2 Е/л.

Линейность: до 600 Е/л.

Если активность креатинкиназы-МВ в образце превышает 600 Е/л, то образец необходимо разбавить раствором хлорида натрия (9 г/л) в соотношении 1:9, а полученный результат умножить на 10 (коэффициент разведения).

Точность:

	Воспроизводимость внутри серии		Воспроизводимость межсерийная	
	Среднее (Е/л)	SD	Среднее (Е/л)	SD
33,7	1,00	166,5	31,3	1,19
2,96	2,26	3,76	3,81	2,15
n	10	10	10	10

Корреляция: Коэффициент корреляции: 0,998 (50 образцов).

*Данные получены при использовании анализатора Mindray серии BS, для других анализаторов они могут отличаться.

Копирование и передача третьим лицам запрещены!

По вопросам методической помощи и закупки обращайтесь по телефонам: 8017-300-65-11; 8017-320-65-10