

**CREATINE KINASE (СК-МВ)
КРЕАТИН КИНАЗА-МВ****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА КРЕАТИН КИНАЗА-МВ В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Скоростта на образуване на NADH, измерена при 340 nm е право пропорционална на активността на СК-МВ в серума.

РЕАГЕНТИ

1. СК-МВ реагент:

Creatine Phosphate	30 mM
Adenosine-5'-Monophosphate (AMP)	2mM
Nicotinamide Adenin Dinucleotide (NAD) 2mM	
Hexokinase	≥3000U/L
Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase	≥2000U/L

2. СВ-МВ дилуент

Buffer 100 mM

СК-М Antibody достатъчно количество да инхибира до 1500U/L от СК-ММ при 37°C

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реагентите са само за "ин витро" употреба. Трябва да се спазват обичайните предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти. Не се препоръчва пипетиране с уста.

ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ

Разтворете всяко шишенце СК-МВ реагент с количеството СК-МВ дилуент посочено на етикета на шишенцето. Разклатете с въртеливо движение, за да се разтвори.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Съхранявайте реагентите при 2-8°C преди разтваряне. Реагентът може да се използва до изтичане на срока на годност, посочен на опаковката. Разтвореният реагент е стабилен поне 7 дни в хладилник (2-8°C) и 24 часа при стайна температура.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Трябва да се използва серум. Избягвайте излагане на пробите на силна светлина. Съхранявайте пробите в хладилник (2-8°C), но не по-дълго от една седмица. Замразяването на пробите (-20°C) води до минимална загуба на активността.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Силно хемолизирани проби не са подходящи за теста, тъй като могат да съдържат високи нива на аденилат киназа, АТР и glucose-6-phosphate, които интерферират с теста и водят до неточни резултати. В литературата е посочен списък на медикаментите, които могат да повлияят на активността на креатин-киназата. Настоящата процедура може да надцени стойностите на СК-МВ, ако активността на СК-ВВ в серума е много висока. СВ-ВВ активността обичайно отсъства в серуми на нормални индивиди и пациенти с инфаркт на миокарда. Някои изследователи са наблюдавали макро форма на ВВ, която може да се измери като В в този тест. Наличие на макро ВВ в пробите трябва да се подозира, ако измерената с настоящата процедура СК-В активност представлява повече от 20% от общата СК активност.

ПРОЦЕДУРА ЗА МАНУАЛНА РАБОТА

1. Разтворете реагента според инструкциите.
2. Пипетирайте по 1.0ml от реагента в подходящи епруветки и ги оставете да се темперират при 37°C в продължение поне на 2 минути.
3. Нулирайте спектрофотометъра с вода при 340 nm.
4. Добавете 0.050ml (50µl) от пробата към реагента, смесете и темперирайте при 37°C в продължение на 5 минути.
5. След пет минути отчетете абсорбцията. Върнете епруветката при 37°C. Повторете отчитането на всяка минута през следващите две минути.
6. Изчислете средната разлика в абсорбцията на минута (ΔAbs/min).
7. Умножете (ΔAbs/min) по фактор 3376, за да получите резултатите за СК-В в IU/L.
8. Пробите със стойности над 1500 IU/L трябва да бъдат разредени 1:1 с физиологичен разтвор, тествани повторно и резултатите от тях да се умножат по 2.

Забележка: Ако спектрофотометърът изисква крайно количество по-голямо от 1.0 ml за точно отчитане, използвайте 3 ml реагент към 0.15 ml проба.

Забележка: Ако спектрофотометърът е с термостатирана кювета, сместа на реакцията може да бъде оставена в нея до края на отчитанията.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Процедурата приема, че активността на СК-ВВ в пробата е пренебрежимо малка. Ако има значителна активност на СК-ВВ, активността на СК-МВ също ще се получи по-висока.

ИЗЧИСЛЕНИЯ

A) Обща СК активност

Определете общата СК активност в серума според инструкциите към теста "СК реагент".

B) СК-В активност

$$IU/L = \frac{\Delta Abs/min \times TV \times 1000}{d \times \epsilon \times SV} = \frac{\Delta Abs/min \times 1000 \times 1.050}{1 \times 6.22 \times 0.050}$$

$$= \Delta Abs/min \times 3376$$

Където:

ΔAbs/min	= средна разлика в абсорбцията на минута
TV	= общ обем на реакцията (1.050)
1000	= преизчисление на IU/ml в IU/L
ε	= милимолярна абсорбтивност на NADH (6.22)
d	= светлинен път (1cm)
SV	= обем на пробата (0.025ml)

B) СК-МВ активност

$$СК-МВ активност = СК-В активност IU/L \times 2^*$$

*СК-МВ молекулата се състои от В поединица и М поединица. Свързването на М поединицата с антиялото води до загуба на половината каталитична активност на СК-МВ молекулата. Следователно СК-МВ активността в пробата е равна на два пъти СК-В активността.

Пример:

Ако ΔAbs/min е 0.20, то $0.20 \times 3376 = 67.5 IU/L$ (СК-В активност)

СК-МВ активност = $67.5 \times 2 = 135.0$

Процентът на СК-МВ активност в пробата е

$$\% СК-МВ активност = \frac{СК-МВ активност \times 100}{Обща СК активност}$$

Например:

Обща СК активност = 1007 IU/L

СК-В активност = 67.5 IU/L

СК-МВ активност = 135 IU/L

$$\% СК-МВ активност = \frac{135 \times 100}{1007} = 13.5\%$$

КАЛИБРАЦИЯ

СК-МВ реагент е подходящ за СК изоензимно изследване, когато общата СК активност на пробата не надвишава 1500 IU/L при 37°C.

ТЕМПЕРАТУРНА КОНВЕРСИЯ

За да конвертирате СК-МВ активността при 37°C в стойности при 30°C, умножете резултатите по 0.60.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

0-24 IU/L (37°C)

0-14 IU/L (30°C).

%СК-МВ < 5.5%

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой диапазон на очаквани стойности.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Линейност: 1500 IU/L.
2. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с подобен метод даде коефициент на корелация 0.98 и уравнение на регресията $y = 0.98x - 0.823$.
3. Точност:

	В серия		Между серии	
Средна стойн (IU/L).	34	132	32	122.8
Станд. откл.	2.8	9.9	3.1	9.2
C.V.(%)	8.2	7.5	9.8	7.4

RE:10/01

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1