

ТЕЧЕН СТАБИЛЕН

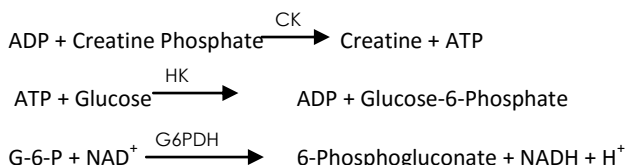
СЪДЪРЖАНИЕ:	BXC0452A	BXC0452B	BXC0452T
R1 Буфер	1 x 25 ml	2 x 25 ml	2x50 ml
R2 Реагент	1 x 5 ml	2 x 5 ml	2x10 ml

ПРИЛОЖЕНИЕ

СК-МВ измерва активността на изоензим СК-МВ в човешки серум и плазма според препоръките на IFCC/DGKC.

ПРИНЦИП

Пробата се инкубира в реагент за СК-МВ, който съдържа анти-СК-М антитела. Активността на неинхибираната СК-В след това се определя със следните реакции:



СК-В катализира обратимата фосфорилация на ADP, при наличието на креатин фосфат до образуването на ATP и креатин. Помощният ензим хексокиназа (HK) катализира фосфорилацията на глюкоза чрез образуването на ATP до получаването на ADP и глюкозо-6-фосфат (G-6-P), който се оксидира до 6-фосфоглюконат и образуване на NADH. Стойността на образувания NADH, измерена на 340 nm, е право пропорционална на активността на съдържащата се в серума СК-В.

РЕЗЮМЕ

Креатин киназите са диметрични молекули съставени от М и В под-единици и са под формата на изоензими MM, MB и BB. Подединиците М и В са имунологично различни; СК-MM и СК-MB обикновено се съдържат в скелетната мускулатура и сърдечния мускул. СК-BB се съдържа в мозъка и в гладката мускулатура. След остър миокарден инфаркт, активността на СК-МВ се увеличава значително и това повишение е особено показателно за лабораторната диагностика на инфаркта на миокарда. Въпреки, че активността на общата СК обикновено се повишава след миокарден инфаркт, при някои пациенти се повишава активността само на СК-MB, докато общата СК остава в нормални граници. При конвенционалните методи, изоензимите на СК се измерват след първото сепариране на трите вида чрез електрофореза, колонен анионен обмен или анионно-обменна хроматография. Но тези методи са много бавни. Wurzburg et al. неотдавна представиха имуноинхибиционен метод, на база на който е разработен нашия СК-MB реагент.

СЪСТАВ НА НАБОРА

R1	Imidazole Buffer, pH 6.7	110 mmol/l
	Glucose	21 mmol/l
	Mg Acetate	11 mmol/l
	EDTA	4.2 mmol/l
	N-Acetylcysteine	24 mmol/l
R2	CK-MM	2000 U/l
	Imidazole Buffer, pH 6.7	110 mmol/l
	Creatinphosphate	186 mmol/l

РАБОТА С РЕАГЕНТИТЕ И ПОДГОТОВКА

Подготовка и стабилност:

Работен реагент: Смесете 5 части от R1 с 1 част от R2.

Този работен разтвор е стабилен до 10 дни при +2°C до +8°C и 24 часа при +20°C до +25°C

Неотваряните флакони са стабилни до срока на годност при +2°C до +8°C.

При старт със субстрат:

R1: готов за работа, R2: готов за работа

Стабилност в апарата:

R1: 3 седмици R2: 3 седмици

ПРОБИ

Серум, хепаринизирана или EDTA плазма

Центрофугирайте пробите, които съдържат преципитат преди анализа. Вземете серума със стандартни епруветки.

Хепаринизирана- или EDTA-плазма

Стабилност: 2 дни при 20- 25°C, 7 дни при 4- 8°C и 4 седмици при – 20°C.

ПОДГОТОВКА НА ПРОБИТЕ

- При анализа за СК-МВ трябва да определите общата СК активност по метода за СК NAC. Антитялото може да инхибира до 2000 U/l СК-М подединици (37°C). Съответно, СК-MM напълно инхибира до 1000 U/l (37°C). Затова проби с обща СК активност над 1000 U/l (37°C), изискват разреждане, тъй като не може да сте сигурни относно пълното инхибиране.

- При анализатори на Roche/Hitachi с автоматично разреждане на пробата.

Когато общата СК активност е над 1000 U/l (16.67 µkat/l), пробите за СК-МВ трябва автоматично да се разреждат. СК-MB пробата се разрежда в анализатора с 0.9% разтвор на NaCl или дестилирана/дейонизирана вода (т.е. 1 + 4).

- При анализатори на Roche/Hitachi без автоматично разреждане Когато общата СК активност е над 1000 U/l (16.67 µkat/l), мануално разреждете пробата с 0.9% разтвор на NaCl или дестилирана/ дейонизирана вода (напр. 1 + 4) преди да направите анализа за СК-MB. Умножете резултата по фактора на разреждане (напр. 5).

МАНУАЛНА ПРОЦЕДУРА

Дължина на вълната	температура	кувета	измерване
340 nm, Hg 334 или Hg 365 nm	+25/+30/+37°C	1 cm св.пътека	Спрямо въздух или дест. вода

1. Старт със серум

Пипетирайте в епруетка:

	макро	полу-макро	микро
Работен реагент	2500 µl	1000 µl	500 µl
проба	100 µl	40 µl	20 µl

Смесете и инкубирайте 5 мин. Отчетете абсорбцията A1.

Инкубирайте 5 мин и отчетете абсорбцията A2.

ИЗЧИСЛЕНИЕ:

ΔA = A2 – A1 (за 5 мин)

	макро	полу-макро	микро
340 nm ΔA/min. x	1651	1651	1651
Hg 334 nm ΔA/min. x	1683	1683	1683
Hg 365 nm ΔA/min. x	2972	2972	2972

2. Старт със субстрат

Пипетирайте както следва:

	макро	полу-макро	микро
R1	2000	800	400
Sample	100	40	20

Смесете и инкубирайте 5 мин. След това добавете.:

R2	400	160	80
----	-----	-----	----

Смесете и инкубирайте 2 мин. Отчетете абсорбцията A1.
Инкубирайте 5 мин и отчетете абсорбцията A2.

ИЗЧИСЛЕНИЯ

$\Delta A = A2 - A1$ (for 5 minutes)

	макро	полу макро	микро
340 nm ΔA /min. x	1588	1588	1588
Hg 334 nm ΔA /min. x	1618	1618	1618
Hg 365 nm ΔA /min. x	2858	2858	2858

ЧУВСТВИТЕЛНОСТ:

Аналитична чувствителност (долна граница на отчитане):

Roche/ Hitachi: 2 U/l (0.03 μ kat/l)

Долната граница на отчитане на СК концентрация представлява най-ниската концентрация, различна от нула.

Измерване/Обхват:

5 – 1000 U/l (0.08 – 16.67 μ kat/l)

Определете пробите с по-висока активност чрез функцията за повторен анализ. При апарати, които нямат такава възможност, разреждете пробите с 0.9% разтвор на NaCl или дестилирана/дейонизирана вода (т.е. 1 + 2). Умножете резултата по фактора на разреждане (т.е. 3).

ТОЧНОСТ

Възпроизводимостта беше определена с контроли. Бяха получени следните резултати:

	В анализ – в серия		
	средно U/l	SD U/l	CV %
Контр.серум I	71.7	1.31	1.83
Контр.серум II	102.4	2.08	2.04
Контр.серум III	197.6	2.19	1.11

	Между анализи – между серии		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Контр.серум I	87.7	2.52	2.88
Контр.серум II	313.6	7.58	2.42
Контр.серум III	526.7	12.03	2.28

СРАВНЕНИЕ

Сравнение на течния реактив за СК-МБ на Фортрес (y) с друг наличен на пазара реактив (x) даде следния резултат:

$y = 1.074x - 3.01$; $r = 0.999$

НОРМАЛНИ СТОЙНОСТИ

На база стандартен метод на DGKC (1977) и IFCC.

Миокарден инфаркт: Има голяма вероятност за миокардно увреждане, ако са изпълнени следните три условия:

	+25°C	+30°C	+37°C
1	СК мъже >80 U/l (1.33 μ kat/l)	>130 U/l (2.17 μ kat/l)	>174 U/l* (2.90 μ kat/l)
	СК жени >70 U/l (1.17 μ kat/l)	>110 U/l (1.83 μ kat/l)	>140 U/l* (2.33 μ kat/l)
2	СК-МБ >10 U/l (0.17 μ kat/l)	>15 U/l (0.25 μ kat/l)	>24 U/l* (0.40 μ kat/l)
3	The СК-МБ-активността е 6-25% от общата СК активност.		

Ако има съмнение за инфаркт на миокарда, но получените стойности са под определените лимити, може да има току-що настъпил инфаркт. Затова анализът трябва да бъде повторен след 4 часа.

За превръщането референтните стойности от 25°C бяха използвани следните фактори: 1.53 (+30°C) and 2.38 (+37°C).

СК варира след физическа активност при здрави индивиди.

Всяка лаборатория трябва да определи възможните резултати на своите пациенти и ако не е необходимо и свой референтен обхват.

Резултатите трябва винаги да бъдат интерпретирани свързани с медицинската история на пациента и другите клинични факти.

ЛИМИТИ-ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

Критерий: Възстановяване в рамките на $\pm 10\%$ от началната стойност

Иктерус: Няма значима интерференция до индекс I от 80 (прибл. концентрация на билирубин: 80 mg/dl). Хемолиза: Няма значима

интерференция до индекс H от 600 (прибл. концентрация на хемоглобин: 600 mg/dl).

Липемия (интралипид): Няма значима интерференция до индекс L от 900 (прибл.концентрация на триглицериди: 1800 mg/dl). Има слаба корелация между мътнината и концентрацията на триглицериди.

При пациенти, предразположени към високи СК нива особено високите нива на СК-МБ трябва да се разглеждат като съотношение към общата СК, тъй като макро формите обикновено съдържат главно СК-В подгрупа. Тъй като тези пациенти не страдат от миокарден инфаркт, необходимо е да бъдат направени допълнителни изследвания.

КАЛИБРАЦИИ

Препоръчва се двуточкова калибрация

- след смяна на партидата
- според изискванията на качествения контрол

КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Fortress СК-МБ контролен серум ВХС0453А

Интервалите на контрол и лимитите трябва да бъдат определени от самата лаборатория и специфичните правила в страната. Всяка лаборатория трябва да има мерки за корекция, в случай, че стойностите са извън лимитите.

БЕЗОПАСНОСТ

Наборът е предназначен за приложение само от съответно квалифициран лабораторен персонал. Прилагайте нормалните правила за работа с лабораторни реактиви. Не поглъщайте материалите с които работите. Изхвърляйте отработените течности според местните правила.

РЕФЕРЕНЦИИ

1. Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB Creatine kinase the choice for the 1990? Circulation 1993;88:750-763.
2. Apple FS. Diagnostic markers for detection of acute myocardial infarction and reperfusion. Laboratory Medicine 1992;23:297-322.
3. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474. Passing H,
4. Guder WG, Narayanan S, Wissner H, Zawta B. List of Analytes Preanalytica Variables, Broschüre in Samples: From The Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag 1996
5. Jockers-Wretou E, Pileider G. Clin Chim Acta 1975;58:223.
6. Neumeier D, Prellwitz W, Würzburg U et al. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity - Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarction. Clin Chim Acta 1976;73:445-451
7. Remaley AT, Wilding P. Macroenzymes: Biochemical Characterization, Clinical Significance, and Laboratory Detection. Clin Chem 1989;35:2261-2270.
8. Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. Annu Rev Med 1994;45:31-44.
9. Stein W. Med. Welt 1985;36:572
10. Szasz G Busch EW. Third European Congress of Clinical Chemistry Brighton, England 3.-8. Juni 1979 (Abstract)

REV APR/13

ПРОИЗВОДИТЕЛ Fortress Diagnostics Limited, Unit 2C Antrim Technology Park, Antrim BT41 1QS (United Kingdom) TEL +44 (0) 2894 487676 FAX +44 (0) 2894 469933 www.Fortressdiagnostics.com

**ВНОСИТЕЛ ЕТГ ЕООД София 1504 ул. Тракия № 15 ет. 1 оф. 1
Тел. 02 8468162 факс 02 846 8163 office@etgdiag.com**