

ИНСТРУКЦИЯ к набору реагентов для определения активности фермента креатинкиназы

Торговая форма набора

Кат № 1.071.2.01	Реагент R1 Реагент R2	1 фл * 40 мл 1 фл * 10 мл
Кат № 1.071.2.10	Реагент R1 Реагент R2	1 фл * 80 мл 1 фл * 20 мл

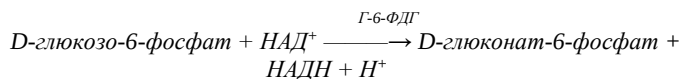
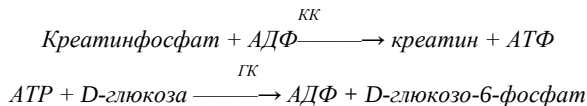
Введение

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.

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) основан на следующей последовательности ферментативных реакций:



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

Аналитические характеристики набора

Чувствительность: 2 Е/л
Линейность: до 900 Е/л.

Образцы и их стабильность

Сыворотка, гепаринизированная плазма крови. Избегать гемолиза!

Подготовка рабочего раствора

Смешать необходимые количества реагентов R1 и R2 в соотношении 4:1.

Проведение анализа

Длина волны 340 нм, температура измерений 37°C, кювета 1 см.

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема 1. Запуск реакции образцом

Раствор	Опытная проба, мл
Рабочий реагент	1,0
Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C	
Образец	0,04
Пробы тщательно перемешать и инкубировать 5 мин. Измерить оптическую плотность опытной пробы (A ₁) по отношению к воздуху или дистиллированной воде. Точно через 5 мин повторить измерение (A ₂)	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (ΔА/мин):
ΔА/мин=(A₂-A₁)/5 мин

Расчет

Каталитическую активность креатинкиназы-МВ (в Е/л) в исследуемой пробе определяют по формуле:

$$\text{Е/л} = \Delta \text{А/мин} * \text{F}$$

Величина F при λ=340 нм, длине оптического пути 1 см и 37°C:

$$\text{F}=8260$$

Фактор F=8260 является теоретически рассчитанным. Точное значение фактора подобрать экспериментально, измерением материалов с известными значениями аналита или методом параллельных проб.

Параметры для автоматического анализа в анализаторе Mi-20/200/300/330/400

При работе с монореагентом по фактору:

Настройка для анализатора	
Тест	СК
№	*
Полное название	Креатинкиназа-МВ
№ стандарта	*
Тип реакции	Кинетика
Измеряют против	Воздух или дистилл.вода
Первичная длина волны	340 нм
Вторичная длина волны	450 нм
Направление	Восходящая
Время реакции	19-38 комп.
Время инкубации	*
Температура измерений	37°C
Единицы	Е/л
Соотношение реагент/проба	25:1
Точность	1
Объем R	250 мкл
Объем пробы	10 мкл
R1 холост	0-0
Смеш холост реаг	0-0
Диапазон линейности	до 900 Е/л
Предел линейности	-
Чувствительность	2 Е/л
Предел субстр	0
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	Двухточечная линейная
Чувствительность	0
Повторы	
Интервал	0
Холостой ответ	-
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

* значения вводит оператор.

Правило калибровки – линейная, на выбор:

Двухточечная линейная (физраствор/вода + стандарт из набора 1-го уровня)

Двухточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня)

Многоточечная линейная (физраствор/вода + стандарт из набора 1-го уровня + разведенный 1:1 стандарт из набора в качестве 2-го уровня)

Многоточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня + мультикалибратор 2-го уровня)

Нормальные значения

до 25 Е/л при 37°C

Примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Пробы, содержащие креатинкиназу с активностью выше 900 Е/л, разводят 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:4, а полученный результат умножают на 5.

Перерасчет единиц

1 Е/л = 1 мкмоль/(мин*л)

1 кат/л = 1 моль(сек*л)

1 Е/л = 16,67 нкат/л

Условия хранения и эксплуатации

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке производителя-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Рабочий раствор стабилен в течение 4 суток при 2-8°C в темном месте! Предохранять от света и загрязнений!

ИНСТРУКЦИЯ к набору реагентов для определения активности креатинкиназы кинетическим методом

Торговая форма и состав набора

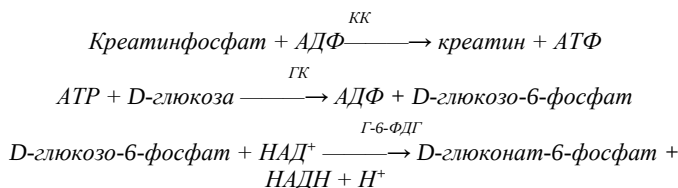
Кат № 1.071.1.01	Реагент R1	1 фл * 40 мл
	Реагент R2	1 фл * 10 мл
Кат № 1.071.1.10	Реагент R1	1 фл * 80 мл
	Реагент R2	1 фл * 20 мл

Введение

Креатинкиназа – широко распространенный клеточный фермент. Основная физиологическая роль фермента – транспорт АДФ. Активность фермента повышается при заболеваниях скелетных мышц (мышечных дистрофиях) и после инфаркта миокарда.

Принцип метода

Кинетический метод определения активности общей креатинкиназы (КК) основан на следующей последовательности ферментативных реакций:



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

Аналитические характеристики набора:

Линейность: до 900 Е/л.

Образцы и их стабильность

Сыворотка, гепаринизированная плазма крови. Избегать гемолиза!!

Подготовка рабочего раствора

Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1.

Проведение анализа

Длина волны: 340 нм, температура измерений 37°C, кювета 1 см.

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема 1. Запуск реакции образцом

Раствор	Опытная проба, мл
Рабочий реагент	1,0
Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C	
Образец	0,04
Пробы тщательно перемешать и инкубировать 2 мин. Измерить оптическую плотность опытной пробы (A ₁) по отношению к воздуху или дистиллированной воде. Точно через 3 мин повторить измерение (A ₂)	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (ΔА/мин):

$$\Delta A/\text{мин} = (A_2 - A_1) / 3 \text{ мин}$$

Расчет

Каталитическую активность креатинкиназы (в Е/л) в исследуемой пробе определяют по формуле:

$$E/\text{л} = \Delta A/\text{мин} * F$$

Величина F при λ=340 нм, длине оптического пути 1 см и 37°C:

$$F=4130$$

Фактор F=4130 является теоретически рассчитанным. Точное значение фактора подобрать экспериментально, измерением материалов с известными значениями аналита или методом параллельных проб.

Параметры для автоматических биохимических анализаторов серии Mindray BS-120/200/300/330/400

Настройки для анализатора	
Тест	СК
№	*
Полное название	Креатинкиназа общая
№ стандарта	*
Тип реакции	Кинетика
Измеряют против	Воздух или дистилл.вода
Первичная длина волны	340
Вторичная длина волны	450
Направление	Восходящая
Время реакции	8-20
Время инкубации	*
Единицы	Е/л
Соотношение реагент/проба	25:1
Точность	-
Объем R1	200
Объем R2	50
Объем пробы	10
R1 холост	0-0
Смеш холост реаг	0-0
Диапазон линейности	
Предел линейности	-
Предел субстр	0
Коэффициент	
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	линейная
Чувствительность	0
Повторы	2
Интервал	0
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

* значения вводит оператор.

При работе с монореагентом изменяются только следующие параметры:

Время реакции	8-20
Время инкубации	-
Единицы	Е/л
Точность	Целое
Объем R1	250
Объем R2	-
Объем пробы	10

Нормальные значения

Мужчины от 25 до 175 Е/л.

Женщины от 25 до 200 Е/л

Примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Пробы, содержащие креатинкиназу с активностью выше 900 Е/л, разводят 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:4, а полученный результат умножают на 5.

Перерасчет единиц

1 Е/л = 1 мкмоль/(мин*л)

1 кат/л = 1 моль(сек*л)

1 Е/л = 16,67 нкат/л

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке производителя-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев от даты производства). Рабочий раствор стабилен в течение 4 суток при 2-8° С в темном месте! Предохранять от света и загрязнений!