



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Молдова, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
Тел.: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

СК- MB - DAC

КРЕАТИНКИНАЗА МВ-ФРАКЦИЯ (СК-МВ) ИММУНОИНГИБИРОВАНИЕ КИНЕТИЧЕСКИЙ UV МЕТОД

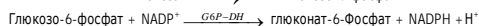
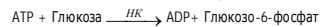
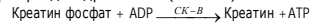
Только для диагностики «in vitro»

Хранить при 2-8°C

Код 2037C30	30 мл
Код 2037C120	120 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Специфическое антитело ингибирует обе субъединицы М СК-ММ (СК-3), и одну субъединицу М СК-МВ (СК-2), поэтому определяется субъединица В СК-МВ (при отсутствии СК-ВВ или СК-1)^{1,2}. Каталитическая концентрация СК-В, соответствующая половине концентрации СК-МВ, определяется по содержанию NADPH, образующегося в результате парных реакций гексокиназы (HK) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6P-DH):



Интенсивность окраски раствора, измеренная при длине волны 340 nm, пропорциональна половине активности СК-МВ

СОСТАВ НАБОРА

Reagent A	Код	2037C30	2037C120
Имидазол/MES буфер	pH 6,5	25 ml	4x25 ml
D-глюкоза	100 mmol/l		
N-ацетилцистеин	20 mmol/l		
магния ацетат	20 mmol/l		
NADP	10 mmol/l		
EDTA	2 mmol/l		
ADP	2 mmol/l		
AMP	5 mmol/l		
Гексокиназа (HK)	> 2500 U/l		
анти-СК-М, способная ингибировать до 8000 U/l СК-ММ			
Reagent B	5 ml	20 ml	
Ди-аденозин-5'-пентафосфат	10 µmol/l		
Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа	> 1500 U/l		
креатинфосфат	30 mmol/l		

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты при 2-8°C стабильны до срока, указанного на этикетке.

Признаки непригодности реагентов: наличие взвеси, мутность.

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка (плазма) без гемолиза. В качестве антикоагулянтов рекомендуется использовать гепарин или EDTA.

СК-МВ при 2-8°C в темноте стабильна 2 дня, при -20°C – 1 месяц.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или термостабирующий фотометр 37°C, с фильтром 340 (±10) nm.

Дозаторы на 40 µl, 1,0 ml.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro.

Образцы должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА

Смешайте 5 объемов Reagent A с 1 объемом Reagent B. Стабилен при 2-8°C 3 недели.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проверки процедуры измерения рекомендуется использовать контрольную сыворотку СК-МВ (Код 2060K05).

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод:	кинетический
Длина волны:	340 nm
Длина оптического пути:	1 cm
Температура:	37°C (±1°C)
Бланк:	по реагенту

1. Доведите температуру **Рабочего Реагента** и фотометра до температуры реакции (37°C).
2. Внесите пипеткой в кювету:

	Бланк	Проба
Рабочий Реагент	1,0 ml	1,0 ml
Образец	-	40 µl
Дистилл. вода	40 µl	-

NB: Объемы реагента и образца могут быть пропорционально изменены в соответствии с рабочим объемом кюветы анализатора.

3. Тщательно перемешайте и вставьте кювету в фотометр, включите секундомер.

4. Спустя 2 минуты измерьте начальную абсорбцию при 340 nm и через интервалы в 1 минуту в течение 3 минут относительно **Бланк**.

5. Вычислите разницу между последовательными абсорбциями и среднюю разницу за 1 минуту ($\Delta A/\text{min}$).

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Активность СК-МВ в пробе вычисляется по формуле:

$$\text{СК-МВ} = \Delta A \times 8352$$

Относительный индекс активности СК-МВ вычисляется по формуле:

$$\text{СК-МВ концентрация} / \text{СК}_{\text{общее}} \text{ концентрация} \times 100 = \%$$

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ^{4,5}

Возможность инфаркта миокарда возрастает при следующих значениях: 37°C **СК-МВ** > 24 U/l

Относительный индекс СК-МВ: 6-25 % общей СК активности.

Данные величины ориентировочны.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность: 0,0013 $\Delta A/\text{min}=11$ U/l.

Линейность: 0,239 $\Delta A/\text{min}=2000$ U/l. При активности СК-МВ выше 2000 U/l, образец необходимо развести физраствором в соотношении 1:1 и повторить определение. Результат умножить на 2.

Воспроизводимость внутри серии:

Средняя концентрация	CV	n
35,7 U/l	6,31 %	20
132,7 U/l	1,53 %	20

Воспроизводимость от серии к серии:

Средняя концентрация	CV	n
39 U/l	10,4 %	20
136,6 U/l	6,85 %	20

* Где: CV–коэффициент вариации; n–число определений.

Интерференция: Гемоглобин до 1,25 g/dl, билирубин до 35 mg/dl, аскорбиновая кислота до 62 mg/l и триглицериды до 250 mg/dl не влияют на результат определения, присутствие в образце повышенного содержания СК-ВВ, аденилаткиназы, макро и митохондриальной СК влияет на результат определения.⁵ Могут оказывать влияние другие вещества³.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Процентное отношение активности СК-МВ к общей активности СК обычно не превышает 6 %, но травмы, чрезмерная физическая нагрузка, миопатии и воспаление сердечной мышцы, стенокардия, сосудистая недостаточность, инфаркт миокарда, субарахноидальное кровоизлияние, гипотермия и гипертермия, злокачественная гипертермия, мышечные дистрофии, синдром Рейе, определенные инфекции, отравления, затяжные аритмии, ХПН приводят к повышению относительного индекса СК-МВ.

Диагностика повреждений миокарда должна основываться на клинических наблюдениях, значениях повышения активности СК-МВ и ее изменениях во времени^{4,7}.



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, г. Chişinău, str. Armenească 47, ap. 64
Тел.: /+37322/ 574900, 574922/23; fax: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

СК- MB-DAC

CREATI NI NCHI NAZA FRACTI A-MB (СК-МВ) I MUNOI NHI BARE KI NETI C UV METODE

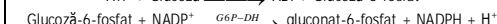
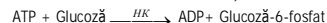
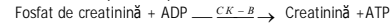
Numai pentru diagnosticare «in vitro»

А се păstra la 2-8°C

Cod 2037C30	30 ml
Cod 2037C100	120 ml

PRINCIPIUL METODEI

Anticorpii specifici inhibează ambele subunități М СК-ММ (СК-3), și о subunitate М СК-МВ (СК-2), deaceia se determină subunitatea В СК-МВ (în cazul în care СК-ВВ sau СК-1 lipsește)^{1,2}. Concentrația catalitică СК-В, care corespunde la 1/2 concentrației СК-МВ, се determină utilizând concentrația NADPH, care се formează în rezultatul reacțiilor pare dintre hexochinază (HK) și glucozo-6-fosfatdehidrogenază (G6P-DH):



Intensitatea culorii, măsurată la 340 (±10) nm, este proporțională activității СК-МВ.

COMPONENTA SETULUI

Reagent A	pH	2037C30	2037C120
Имидазол/MES buffer	6,5	25 ml	4x25 ml
D-глюкоза	100 mmol/l		
N-ацетилцистеин	20 mmol/l		
Ацетат де магнеziu	10 mmol/l		
NADP	2 mmol/l		
EDTA	2 mmol/l		
ADP	2 mmol/l		
AMP	5 mmol/l		
Hexochinaza	> 2500 U/l		
anti-СК-М, poate inhiba până la 8000 U/l СК-ММ			
Reagent B	5 ml	20 ml	
Diadenozin-5-fosfat	10 µmol/l		
Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza	> 1500 U/l		
Creatinin fosfat	30 mmol/l		

PĂSTRAREA ŞI STABILITATEA REAGENȚILOR

Reagenții sunt stabili la 2-8°C până la data indicată pe etichetă.

Semne de deteriorare: prezența particulelor materiale, turbiditate.

PROBE

Ser (plasmă) fără hemoliză. În calitate de anticoagulant се recomandă de utilizat heparina, EDTA.

СК-МВ la 2-8°C, la un loc ferit de lumină, este stabilă 2 zile, la-20°C – о lună.

ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Analizor, spectrofotometru sau фотометру термостатич 37°C, cu filtru 340 (±10) nm.

Dozatoare 40 µl, 200 µl, 1,0 ml.

PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro.

Probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și се vor prelua analog celor contaminate.

PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

5 ml Reagent A + 1 ml Reagent B. Se va amesteca atent.

Este stabil la 2-8°C 3 săptămâni.

CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul procedurii de măsurare се recomandă de folosit seruri de control СК-МВ (Cod 2060K05).

METODA DE LUCRU

Metoda:	cinetic
Lungimea de undă:	340 nm
Lungimea optică:	1 cm
Temperatura:	37°C (±1°C)
Instalarea zero:	după reagent

1. Reagentul de lucru și фотометруl се vor încăzi până la temperatura reacției (37°C).
2. Se va pipeta în cuvă cu lungimea optică 1 cm :

	Blank	Proba
Reagentul de lucru	1,0 µl	1,0 µl
Proba	-	40 µl
Apă distilată	40 µl	-

NB: Volumul reagentului și probei pot fi schimbate proporțional conform volumului de lucru a cuvei analizatorului folosit

3. Se va amesteca bine, cuvă се va inserta în фотометру. Se va declanşa cronometруl.

4. Se va măsura absorbția inițială peste 2 minute la 340 nm, apoi cu intervale de 1 minut се va măsura absorbția pe parcursul a 3 minute contra Blanc.

5. Se va calcula diferența dintre absorbțiile consecutive și diferența medie între absorbții pe 1 min ($\Delta A/\text{min}$).

CALCUL

Activitatea СК-МВ în probă се va calcula utilizând formula:

$$\text{СК-МВ} = \Delta A \times 8352$$

Indicele relativ al activității СК-МВ се calculează utilizând formula:

$$\text{СК-МВ concentrația} / \text{СК}_{\text{total}} \text{ concentrația} \times 100 = \%$$

VALORI DE REFERINȚĂ^{4,5}

Possibilitatea infarctului miocardic crește în dependență de valorile СК-МВ: 37°C **СК-МВ** > 24 U/l

Indicele relativ СК-МВ: 6-25 % activitatea CK totală.

Aceste valori sunt orientative.

CARACTERISTICI METROLOGICE

Sensibilitatea: 0,0013 $\Delta A/\text{min}=11$ U/l.

Linearitate: 0,239 $\Delta A/\text{min}=2000$ U/l. Dacă СК-МВ depășește 2000 U/l, proba trebuie diluată cu soluție salină într-un raport de 1:1 și de repetat determinarea. Rezultatul de înmulțit cu 2.

Reproductibilitatea în interiorul seriei:

Concentrația medie	CV	n
35,7 U/l	6,31 %	20
132,7 U/l	1,53 %	20

Reproductibilitatea de la serie la serie:

Concentrația medie	CV	n
39 U/l	10,4 %	20
136,6 U/l	6,85 %	20

* CV– coeficientul de variație; n– numărul de determinări.

Interferențe: hemoglobina până la 1,25 g/dl, bilirubin până la 35 mg/dl, ascorbic acid până la 62 mg/l, lipemia (trigliceride 250 mg/dl) nu influențează rezultatul.

Prezența în probă a СК-ВВ cu concentrație sporită, a adenilat chinazei, СК macro și microhondrială influențează rezultatul⁵

Se va ține cont de posibila interferență altor substanțe³.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Sursa principală de СК-МВ în organismul uman este mușchii cardiaci. СК-МВ este prezentă și în mușchii scheletici. Raportul dintre activitatea СК-МВ și activitatea СК totală de obicei nu depășește 6 %, dar stările de traumă, inclusiv și cea chirurgicală: efort fizic, miopatie și inflamarea mușchilor cardiaci, stenoardie nestabilă, insuficiență vasculară și șoc, infarct miocardic, hemoragie subarahnoidiană, hipotermia și hipertermia, hipertermia malignă, distrofie musculară, sindrom Reie, determinarea infecției, otrăviri, aritmii lente și insuficiența renală cronică conduc la sporierea indecueli relativ СК-МВ. Diagnosticul afectării miocardului се va baza pe observațiile clinice, valorile ridicate a activității СК-МВ cit și devierea valorilor în timp^{4,7}.



DAC-SPECTROMED SRL

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova
 Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com
 PT MD 11-38623324-002:2002

CK-MB-DAC

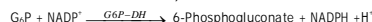
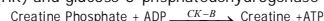
CREATINE KINASE MB (CK-MB)
 IMMUNOINHIBITION KINETIC UV METHOD

For « in vitro » use only
 Store at 2-8°C

Code 2037C30 30 ml
 Code 2037C120 120 ml

PRINCIPLE

Specific antibody inhibits both subunits M CK-MM (ck-3) and one subunit M CK-MB (CK-2), that's why subunit B CK-MB is determined (at absence of CK-BB and CK-1)^{1,2} Catalytical concentration of CK-B, corresponding to the half concentration of CK-MB, is determined by NADH concentration, produced as the result coupled reactions of hexokinase (HK) and glucose-6-phosphatedehydrogenase (G6P-DH):



The intensity of produced colour, measured photometrically 340 nm, is proportional to the half concentration of CK-MB.

CONTENTS AND COMPOSITION

	Code	2037C30	2037C120
Reagent A	pH=6.5	25 ml	4x25 ml
Imidazole/MES buffer	100 mmol/l		
D-Glucose	20 mmol/l		
N-Acetylcysteine	20 mmol/l		
Magnesium acetate	10 mmol/l		
NADP	2 mmol/l		
EDTA	2 mmol/l		
ADP	2 mmol/l		
AMP	5 mmol/l		
Hexokinase (HK)	> 2500 U/l		
Anti-human-CK-M	able to inhibit up to 8000 U/l of CK-M		
Reagent B		5 ml	20 ml
P1, P5-di (adenosine-5')	10 µmol/l		
pentaphosphate			
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	> 1500 U/l		
Creatine phosphate	30 mmol/l		

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents are stable at 2-8°C until the expiry date shown on the label. Signs of reagents deterioration: presence of particulate material, turbidity.

SAMPLES

Serum or plasma, free of haemolysis. Heparin or EDTA is recommended as anticoagulant.

CK-MB is stable for 2 days at 2-8°C, 1 month at -20°C protected from light.

ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer or photometer with cell holder thermostatable at 37°C and able to read at 340 (±10) nm. Pipette for 40 µl, 1,0 ml.

PRECAUTION

The kit is only for in vitro use.

Patient serum specimens must be handled as potentially dangerous and treated as infectious.

REAGENT PREPARATION

Mix Reagent A and Reagent B in ratio 5+1. Working reagent is stable for 3 weeks at 2-8°C.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the CK-MB control sera (cod 2060K05) to verify the performance of the measurement procedure.

PROCEDURE

Method: kinetic
 Wavelength: 340 nm
 Temperature: 37°C (±1°C)
 Cuvette: 1 cm light path
 Read against: Reagent

1. Bring the Working reagent and the photometer to reaction temperature (37°C).
2. Pipette into cuvette:

	Blank	Sample
Working reagent	1,0 ml	1,0 ml
Sample	-	40 µl
Distilled water	40 µl	-

NB: Volumes of reagent, standard and samples can be proportionally changed according to the working volumes of cuvettes in the applied analyzers

3. Mix thoroughly and place cuvette into photometer, start the timer.
5. After 2 minutes measure initial absorbance at 340 nm and absorbances with 1 minute intervals during 3 minutes against blank.
6. Calculate the difference between consecutive absorbances and mean absorbance difference for 1 minute (ΔA/min).

CALCULATIONS

The CK-MB activity in the sample is calculated using the following general formula:

$$C_{\text{CK-MB}} = \Delta A \times 8352$$

Relative activity index is calculated as follows:

$$\text{CK-MB conc.} / \text{CK Total conc.} \times 100 = \%$$

REFERENCE VALUES

Miocardial infarction incidence is high at the following conditions:

37°C CK-MB > 24 U/l

Relative index of CK-MB: 6-25% of total CK activity.

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Sensitivity: 0,0013 ΔA/min = 11 U/l

Linearity limit: 0,239 ΔA/min = 2000 U/l. At CK-MB activity more than 2000 U/l sample is to be diluted 1:1 by saline and retest. Multiply by 2.

Repeatability (within run):

Mean Concentration	CV, %	n
35,7 U/l	6,31 %	20
132,7 U/l	1,53 %	20

Reproducibility (run to run):

Mean Concentration	CV, %	n
39 U/l	10,4 %	20
136,6 U/l	6,85 %	20

* CV - coefficient of variation n - number of determinations

Interferences: no interferences was observed with hemoglobin up to 1,25 g/dl, bilirubin up to 35 mg/dl, ascorbic acid up to 62 mg/dl, triglycerides up to 250 mg/dl. Presence of high amount of CK-BB or adenylate kinase, macro and micro mitochondrial CK may affect the results⁵. Other drugs and substances may interfere³.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Percent ration of CK-MB activity to total CK activity is usually not more than 6%, but injuries, excessive physical activity, myopathy and myocarditis, stenocardia, circulatory collapse, myocardial infarction, subarachnoid hemorrhage, hypothermia and hyperthermia, malignant hyperpyrexia, muscular dystrophy, Reye's syndrome, some infections, poisoning, lingering arrhythmias, chronic renal insufficiency cause the increase of relative CK-MB index.

Diagnosing of myocardium damage should be based on the clinical observations, CK-MB activity increase value and activity change in time.^{4,7}

BIBLIOGRAPHY

1. Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-116.
2. Gerhardt W et al. Creatinine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979; (25/7): 1274-1280.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC Press, 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3 rd ed AACCC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd AACCC 1995.