

REF 10226-4 4 x 28 мл/7 мл

## РЕАГЕНТ КРЕАТИНКИНАЗЫ-МВ (СКМВ)

Каждый контейнер содержит полезный объем из 28 мл реагента R1 и 7 мл реагента R2.

### НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент СКМВ EasyRA предназначен для количественного определения ферментов креатинкиназы-МВ (СКМВ) в человеческой сыворотке и плазме с помощью биохимического анализатора MEDICA EasyRA в клинических лабораториях. Показатели измерения СКМВ используются для диагностирования и лечения инфаркта миокарда и таких заболеваний мышц, как прогрессирующая псевдогипертрофическая миопатия Дюшенна. Только для диагностического применения *in vitro*. Только для профессионального применения.

### КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ

Креатинкиназа (СК) представляет собой димерные молекулы, состоящие из субъединиц М и В, и существует в качестве изоферментов ММ, МВ и ВВ.<sup>1</sup> Субъединицы М и В иммунологически различаются. СК-ММ и СК-МВ распределяются в основном в скелетных мышцах и в сердечной мышце соответственно, а СК-ВВ присутствует в основном в мозгу и в тканях, состоящих из гладкой мускулатуры.<sup>2</sup> Определение активности СК-МВ в сыворотке — важный элемент в диагностике ишемии миокарда, например острого инфаркта миокарда, миокардита и т. п.<sup>3,4</sup> СК-МВ обнаруживается в крови примерно через 3-8 часов после начала симптомов со стороны сердца и может продолжать обнаруживаться на протяжении длительного периода времени в зависимости от течения заболевания.<sup>3</sup> Повышенный уровень СК-МВ не является специфичным для инфаркта миокарда и может обнаруживаться при других болезненных состояниях. Повышенные значения СК-МВ следует интерпретировать в сочетании с клиническими проявлениями и историей болезни.

### ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

В рамках этой процедуры активность СК измеряется в присутствии антитела к мономеру СК-М. Это антитело ингибирует субъединицы М СК-ММ и СК-МВ и таким образом позволяет определять наличие субъединицы В СК-МВ (если предполагать отсутствие СК-ВВ). Каталитическая концентрация СК-В, соответствующая половине концентрации СК-МВ, определяется на основе уровня образования НАДФН, измеряется при 340 нм с использованием следующей серии реакций:



Активность СК-МВ рассчитывается путем умножения активности СК-В на два.

### СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

#### Буферный реагент СК-МВ (R1):

|  |              |
|--|--------------|
| Имидазоловый буфер (рН 6,3)  | 50 ммоль/л   |
| Глюкоза  | 20 ммоль/л   |
| N-ацетил-L-цистеин   | 20 ммоль/л   |
| Ацетат магния  | 10,0 ммоль/л |
| НАДФ   | 2,0 ммоль/л  |
| ЭДТК   | 2,0 ммоль/л  |
| Гексокиназа  | 5,0 кЕд/л    |
| LDH  | 1,5 кЕд/л    |
| Азид натрия  | < 0,1%       |
| Моноклональные антитела (мышинные)<br>против человеческой СК-М, ингибирующая способность |              |

### Субстратный реагент СК-МВ (R2):

|                             |             |
|-----------------------------|-------------|
| Имидазоловый буфер (pH 9,0) | 50 ммоль/л  |
| Креатин фосфат              | 150 ммоль/л |
| АДФ                         | 10 ммоль/л  |
| АМР                         | 20 ммоль/л  |
| Диаденозин пентафосфат      | 50 ммоль/л  |
| Глюкозо-6- PDH              | 20 КЕд/л    |
| Азид натрия                 | < 0,1%      |

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. При работе с любыми лабораторными реагентами следует соблюдать стандарты безопасности надлежащей лабораторной практики. (CLSI, GP17-A2).
2. Этот материал содержит азид натрия в качестве консерванта. Избегайте проглатывания, контакта с кожей или слизистыми оболочками. В случае попадания на кожу обильно промойте поврежденный участок водой. При попадании в глаза или проглатывании немедленно обратитесь за медицинской помощью. См. «Спецификацию по безопасности для получения информации о риске, потенциальной опасности и безопасности.
3. Как и при любой диагностической процедуре, результаты следует интерпретировать только в совокупности с результатами всех остальных анализов и клинического обследования пациента.
4. Не используйте вымытые кюветы.

### ИНСТРУКЦИИ ПО ОБРАЩЕНИЮ, ХРАНЕНИЮ И ОБЕСПЕЧЕНИЮ СТАБИЛЬНОСТИ РЕАГЕНТОВ

Данный набор реагентов поставляется в готовом к использованию виде. Закрытый реагент стабилен до срока годности, указанного на этикетке, при хранении при температуре 2—8° С. Реагент стабилен внутри охлажденной камеры для реагентов анализатора EasyRA в течение срока, запрограммированного на чипе радиочастотной идентификации (RFID) на контейнере реагента. Не используйте реагент, если он замутнен или непрозрачен, или если в сыворотке не удалось определить известные контрольные значения.

### СБОР И ХРАНЕНИЕ/СТАБИЛЬНОСТЬ ОБРАЗЦОВ

Следует использовать прозрачную сыворотку или плазму без признаков гемолиза. Можно использовать плазму из крови, взятой с помощью литий-гепарина в качестве антикоагулянта. Отцентрифугируйте и удалите сыворотку/плазму как можно быстрее после взятия. СК-МВ из сыворотки/плазмы стабильна в течение 3 дней при температуре 2—8° С.

### ПРОЦЕДУРА

#### Входящие в комплект материалы

Контейнер для реагента Medica СКМВ, REF 10226

#### Необходимые дополнительные материалы

Доступный в продаже контрольный материал

Набор контрольных растворов для теста на точность Medica, кат. № 10764

Контейнер Medica Cleaner — Chemistry & ISE, REF 10660 *или*

Набор для промывки пробозаборника Medica — Chemistry, кат. № 10661

#### Инструкции по применению

Данный набор реагентов поставляется в готовом к использованию виде. Удалите колпачок и поместите реагент в отделение для реагентов анализатора Medica EasyRA, расположенное в зоне для реагентов. Автономная стабильность (максимум 30 день) запрограммирована в чипе RFID на контейнере реагента.

**Примечание.** Проверьте внутреннюю поверхность горловины контейнера на наличие пены после удаления крышки и помещения контейнера в анализатор. В случае наличия пены удалите ее тампоном или одноразовой пипеткой до проведения исследования. Используйте отдельные чистые тампоны или одноразовые пипетки для R1 и R2.

#### Калибровка

Не применяется.

#### Контроль качества

Рекомендуется проводить два уровня контроля анализа на основе человеческой сыворотки (нормальный и аномальный) ежедневно, независимо от времени забора образцов, а также при каждой смене партии реагентов. Если при анализе контрольного материала получены результаты вне допустимого диапазона значений, то это может указывать на нарушение свойств реагента, нарушение работы оборудования или ошибки выполнения процедуры. Кроме того, при использовании контрольных материалов лаборатория должна соблюдать местные, региональные и государственные нормативы по контролю качества.

## Результаты

После завершения анализа биохимический анализатор Medica EasyRA рассчитывает концентрацию СК-МВ по изменению оптической плотности в минуту, объему образца, общему объему реакции, длине пути, равной 0,6 см, и молярной абсорбирующей способности, равной 6,22.

$$\text{СК-МВ (ед/л)} = \text{СК-В (ед/л)} \times 2 = (\Delta A/\text{мин}) \times \frac{(\text{Общий объем (мкл)} \times 1000) \times 2}{(\text{Молярная абсорбирующая способность} \times \text{длина пути (см)}) \times \text{объем образца (мкл)}}$$

Показатель в единицах на литр (ед/л) активности СК-В является количеством фермента, который окисляет один мкмоль/л НАДФ в минуту.

## Ожидаемые значения<sup>6</sup>

Диапазон нормальных значений активности СК-МВ на анализаторе EasyRA составляет меньше 24 ед/л.<sup>7,8</sup> Компания Medica проверила этот диапазон в соответствии с CLSI C28-A3с. Из-за существующих различий между приборами, лабораториями и особенностью населения в каждой лаборатории рекомендуется установить собственный диапазон ожидаемых нормальных значений.

## Ограничения Процедуры (например, если образец выходит за пределы диапазона метода)

Могут использоваться только негемолизированные образцы сыворотки или плазмы. Если изменение оптической плотности в минуту ( $\Delta A/\text{мин}$ ) больше, чем 0,003, что соответствует примерно 100 ед/л, анализатор отметит результаты в виде сигнала «SD» (истощение субстрата). Более высокие показатели изменения оптической плотности выходят за границы линейных значений теста. Если оператор выбирает значок «Re-run», образец можно повторно анализировать, используя одну пятую (1/5) его объема. Результаты повторного анализа рассчитываются для отображения анализа меньшего объема пробы. Данная процедура позволяет эффективно увеличить регистрируемый диапазон анализа СК-МВ до 500 ед/л.

## Рабочие характеристики<sup>9</sup>

### Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон составляет 5—100 ед/л. Расширенный диапазон составляет 5—500 ед/л, если используется одна пятая объема образца (раствор 1: 4).

### Погрешность/корреляция (CLSI, EP9-A2)

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении реагента Medica для СК-МВ (Y) в анализаторе EasyRA с характеристиками одобренного FDA реагента СК-МВ (X) в анализаторе Stanbio Sirus®\*. Приведенные ниже значения получены в результате однократных измерений сыворотки в анализаторе EasyRA в сравнении со средним из двух повторных значений, полученных на устройстве, одобренном FDA.

| СЫВОРОТКА | Количество образцов    | 41     | Размах выборки               | 6—100 ед/л        |
|-----------|------------------------|--------|------------------------------|-------------------|
|           | Угловой коэффициент    | 0,9869 | Отрезок, отсекаемый на оси y | 0,4702            |
|           | Коэффициент корреляции | 0,9961 | Уравнение регрессии          | 0,9869*X + 0,4702 |

\*Sirus — это зарегистрированная торговая марка Stanbio Laboratory LLP, 1261 North Main St. Boerne, TX 78006

Приведенные ниже значения получены в результате однократных измерений плазмы (с литий-гепарином) в сравнении со средним из двух повторных значений сыворотки, полученных на анализаторе EasyRA. Все параметры анализа одинаковы.

| ПЛАЗМА | Количество образцов    | 57     | Размах выборки               | 5—96 ед/л         |
|--------|------------------------|--------|------------------------------|-------------------|
|        | Угловой коэффициент    | 0,9797 | Отрезок, отсекаемый на оси y | 1,4523            |
|        | Коэффициент корреляции | 0,9945 | Уравнение регрессии          | 0,9797*X + 1,4523 |

### Погрешность (CLSI, EP5-A2)

Повторные измерения каждого из трех уровней калибровочного (QC) материала проводились дважды в день в течение 20 дней. На основании этих данных определялись точность внутри ряда измерений и общая точность.

| Погрешность внутри ряда измерений: |                       |                       | Общая погрешность:        |                   |                   |
|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|-------------------|
| Уровень контроля качества          | Внутри ряда измерений | Внутри ряда измерений | Уровень контроля качества | Общая погрешность | Общая погрешность |
| ед/л                               | Станд. откл. ед/л     | Коефф. вар. %         | Станд. откл. ед/л         | Коефф. вар. ед/л  | %                 |
| 94                                 | 0,9                   | 0,9                   | 94                        | 1,7               | 1,8               |
| 30                                 | 0,7                   | 2,4                   | 30                        | 0,9               | 3,0               |
| 14                                 | 0,6                   | 3,9                   | 14                        | 0,8               | 5,5               |

### Линейность (CLSI, EP6-A)

Линейная корреляция в диапазоне 5—100 ед/л описывается уравнением линейной регрессии вида:  
 $Y = 1,0009 \cdot X - 0,2291$

|   |          |                |
|---|----------|----------------|
| Граница пустого образца (LOB):            | 1,7 ед/л | (CLSI, EP17-A) |
| Предел обнаружения (LOD):                 | 2,9 ед/л | (CLSI, EP17-A) |
| Предел количественного определения (LOQ): | 5,0 ед/л | (CLSI, EP17-A) |

### Вещества, влияющие на результаты исследования (CLSI, EP7-A)

Менее 10% интерференции классифицировалось как «отсутствие значимой интерференции». Возникает интерференция гемоглобина даже в минимальных концентрациях. Не используйте пробы, в которых присутствует гемолиз.  
Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений билирубина до 25 мг/дл.  
Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений триглицеридов до 775 мг/дл (с использованием Intralipid\*<sup>10</sup>).  
Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений аскорбиновой кислоты до 30 мг/дл.

\*Интралипид является зарегистрированной торговой маркой Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young приводит список лекарственных средств и других веществ, которые создают помехи при клинических лабораторных исследованиях<sup>10,11</sup>.

Примечание. Процедура может переоценивать значения активности СК-МВ, если активность изофермента СК-ВВ в сыворотке высока. Активность СК-ВВ обычно отсутствует в сыворотках от здоровых людей и пациентов с инфарктом миокарда<sup>7</sup>. Следует подозревать присутствие макроформы СК-ВВ в образце, если активность СК-МВ, измеренная в результате этой процедуры, представляет собой более 20% общей активности СК.

### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Dawson, D.M. et al., Biochem Biophys. Res. Comm 21:346 (1965).
- 2 Neumeir, D., Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme, Lang, Editor, Springer Verlag, ew York, 1981, 85-109.
- 3 Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. Annu Rev Med 1994;45:31-44.
- 4 Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? Circulation 1993;88:750-763.
- 5 D'Souza, J.P., et al., Clin. Biochem 11, 204 (1978).
- 6 Stein, W., Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985;36:572-7.
- 7 Klein G, Berger A, Bertholf R et al. Abstract: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. Clin Chem 2001; 47:Suppl. A30.
- 8 Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
- 9 Данные Medica.
- 10 Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2<sup>nd</sup> ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 11 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; Effects of drugs on clinical laboratory tests. Clin Chem 21: 246D, 1975.

### Параметры анализа EasyRA (СКМВ)

|  |             |
|--|-------------|
| Основная длина волны (нм)                          | 340         |
| Вторичная длина волны (нм)                         | 405         |
| Тип реакции  | Фермент (0) |
| Направление реакции                                | Увеличение  |
| Пустой реагент                                     | Нет         |
| Пустой образец                                     | Нет         |
| Максимальный первый интервал. Отсутствие изменения | 0,003       |
| Время реакции                                      | 9,3 мин     |
| Периодичность калибровок (максимальная)            | Нет данных  |
| Автономная стабильность реагента                   | 30 день     |

**Сыворотка/плазма**

|  |  |
|--|--|
| Объем пробы (мкл)                        | 8,0  |
| Объем растворителя (мкл)                 | 20   |
| Объем реагента R1 (мкл)                  | 160  |
| Объем реагента R2 (мкл)                  | 40   |
| Десятичные знаки (значения по умолчанию) | 0  |
| Единицы (значения по умолчанию)          | ед/л   |
| Коэффициент разбавления                  | 1:4 (1/5 используемого образца) (для расширения диапазона измерения) |
| Линейность                               | 5—100 ед/л   |
| Молярная абсорбирующая способность       | 6,22   |



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive  
Bedford, Massachusetts 01730-1413 USA



Emergo Europe, Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem, The Netherlands