

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей компании

от _____ 2011 г. № _____ -Пр/11



«Юнимед-менеджмент»

А.Н.Шибанов

2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения активности креатинкиназы в сыворотке или плазме крови человека УФ-кинетическим методом
«КРЕАТИНКИНАЗА - UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА - UTS» предназначен для определения активности общей креатинкиназы в сыворотке крови или плазме человека кинетическим методом, рекомендованным Немецким обществом Клинической Химии (DGKC) и Международной Федерацией Клинической Химии (IFCC) в клинко-диагностических и биохимических лабораториях.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (комплект 1); 200 (комплект 2); 400 определений (комплект 3) или 500 определений (комплект 4) при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Под действием находящегося в анализируемом образце фермента креатинкиназы происходит перенос фосфатной группы с креатинфосфата на АДФ. Затем в ходе последовательных ферментативных реакций НАДФ восстанавливается до НАДФН. Увеличение концентрации НАДФН пропорционально, таким образом, исходной активности креатинкиназы в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

2.2. Диагностическая значимость

Креатинкиназа – фермент, состоящий из изоферментов, присутствующих в мышцах (М) и клетках мозга (В). В сыворотке фермент существует в виде димеров ММ, МВ, ВВ. Повышенные значения креатинкиназы наблюдаются при повреждениях сердечной мышцы и болезнях скелетных мышц. Определение креатинкиназы, особенно в сочетании с определением димера МВ-фракции, применяется для диагностики инфаркта миокарда.

2.3. Состав набора

Компоненты и их состав:

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 (Р1) буферно- субстратный раствор	имидазол	125 ммоль/л
	Д-глюкоза	25 ммоль/л
	N-ацетил-L-цистеин	25 ммоль/л
	магния ацетат	12,5 ммоль/л
	НАДФ	2,5 ммоль/л
	ЭДТА	2 ммоль/л
	гексокиназа	6800 Е/л
Реагент 2 (Р2) ферментно- кофакторный раствор	АДФ	15,2 ммоль/л
	АМФ	25 ммоль/л
	диаденозин пентафосфат	108 ммоль/л
	глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназу,	8800 Е/л
	креатинфосфат	250 ммоль/л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения активности креатинкиназы от 10 Е/л до 2000 Е/л, отклонение от линейности не превышает 5%.

3.2. Чувствительность – не более 10 Е/л.

3.3. Воспроизводимость: коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.4. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, *аттестованные по значению активности креатинкиназы методом IFCC/DGKC.*

3.4. Для калибровки автоматизированных фотометрических систем рекомендуется использовать сывороточные калибраторы, *аттестованные по значению активности креатинкиназы методом IFCC/DGKC.*

3.5. Нормальные величины активности креатинкиназы в сыворотке или плазме взрослого человека составляют не более 170-195 Е/л.

3.6. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.3. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 340 нм, термостатируемая при 25, 30 или 37° ($\pm 0,5$ °C) кювета с длиной оптического пути 10 мм*

- Термостат или водяная баня, обеспечивающие температуру 25, 30 или +37° ($\pm 0,5$ °C)

- Секундомер

- Пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 20, 40 и 1000 мкл

- Цилиндры мерные объемом 25 и 100 мл

- Колба коническая вместимостью не менее 150 мл

- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор)

- Вода дистиллированная или деионизованная.

- Перчатки резиновые или пластиковые.

***Внимание:** при использовании кювет с длиной оптического пути, отличной от 10 мм, требуется перерасчет фактора набора. При использовании биохимического анализатора с ненормированной длиной оптического пути требуется калибровка по сывороточным калибраторам, аттестованным по значению активности креатинкиназы методом IFCC/DGKC.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови.

6.2. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

6.3. Образцы сыворотки и плазмы крови стабильны при температуре +2-8 °C не более 2 дней, или 1 месяца при -20 °C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. **Приготовление рабочего реагента:** смешать в колбе конической 4 объема Реагента 1 и 1 объем Реагента 2, отмеренные мерными цилиндрами. Раствор рабочего реагента стабилен 14 дней при температуре 2-8 °C или 2 суток при 18-25 °C.

7.2. Раствор рабочего реагента прогреть до выбранной температуры (25, 30 или 37 °C).

7.3. Компоненты реакционной смеси отбирать в объемах, указанных в таблице:

Наименование	Объем, мкл	
	25-30 °C	37 °C
Рабочий реагент	1000	1000
Сыворотка или плазма крови	40	20

7.4. Пробы перемешать и инкубировать при выбранной температуре в течение 2 минут.

Примечания. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:25 при 25-30 °С и 1 : 50 при 37 °С).

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_0) при выбранной температуре, при длине волны 340 нм против дистиллированной воды или воздуха.

8.2. Повторить измерения оптической плотности пробы не менее 3 раз с интервалом 1 минута (D_1 , D_2 и D_3).

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать среднее изменение оптической плотности пробы в минуту (ΔD):

$$\Delta D = [(D_1 - D_0) + (D_2 - D_1) + (D_3 - D_2)] / 3$$

9.2. Активность креатинкиназы в сыворотке или плазме крови А (Е/л) рассчитать по формуле:

$$A = F \times \Delta D$$

где F – фактор пересчета для выражения активности креатинкиназы в Е/л, равный:

при 25-30 °С – 4850;

при 37 °С – 9500.

9.3. Если вычисленное значение ΔD превышает величину 0,21 ед. опт. плотн./мин, развести исследуемый образец физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ, а результат определения умножить на 10.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-UTS» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора 18 месяцев.

10.3. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2-8 °С в плотно закрытых флаконах в темном месте в течение всего срока годности набора.

10.4. Рабочий реагент можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре 2-8 °С не более 14 суток или при комнатной температуре (18-25 °С) не более 2 суток.

10.5. Оптическая плотность рабочего реагента при 340 нм должна составлять не более 0,5 ед. опт. плотн. (при использовании кювет с длиной оптического пути 10 мм).

10.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора «КРЕАТИНКИНАЗА-UTS» следует обращаться в ЗАО «А/О ЮНИМЕД» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31.

Факс: (495) 564-86-41; E-mail: office@unimedao.ru; <http://www.unimedao.ru>

Руководитель отдела производства реагентов ООО «ЭЙЛИТОН»

 к.б.н. Нечаев В.Н.

« 01 » февраля 2011 г

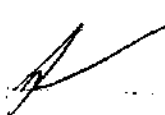


клинической лабораторной диагностики

ФГБУ «ВНИИОИ» Росздравнадзора

д.м.н., профессор Долгов В.В.

« 01 » февраля 2011 г



Всего прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 3 лист.
Генеральный директор УК
А.Н. Шибанов