

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
От _____ 200__ г.
№ _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ООО «НПФ АБРИС+»
В.М. Марковский
_____ 2008 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
общей и кардиоспецифической (МВ) фракций креатинкиназы в сыворотке крови
(«КРЕАТИНКИНАЗА АБРИС+»)

1. Назначение

Набор предназначен для количественного определения активности общей и кардиоспецифической (МВ) фракций креатинкиназы в сыворотке крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 50 определений активности общей фракции и 50 определений активности МВ-фракции креатинкиназы при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ

2. Характеристика набора.

2.1. Принцип метода

2.1.1. Определение общей активности креатинкиназы:

Креатинфосфат + АДФ $\leftarrow$ Креатинкиназа $\rightarrow$ креатин + АТФ

АТФ + глюкоза $\leftarrow$ Гексокиназа $\rightarrow$ АДФ + глюкозо-6-фосфат

глюкозо-6-фосфат + НАДФ $\leftarrow$ Глюкозо-6-ДГ $\rightarrow$ 6-фосфоглюконат + НАДФН

Количество образовавшегося в результате сопряженных реакции НАДФН пропорционально активности креатинкиназы в исследуемом образце.

Инструкция составлена директором по науке ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н. Ю.Г. Поповым и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д.м.н., профессором А.В. Козловым.

2.1.2. Определение активности МВ-фракции креатинкиназы происходит аналогично определению активности общей фракции, однако, в реакционную смесь введены специфические антитела против М-субъединицы (КК-М), блокирующие ее активность. Таким образом, антитела блокируют активность КК-ММ изоэзима и половину активности, приходящейся на долю КК-МВ изоэзима. В тесте определяется только активность КК-В, составляющая половину активности КК-МВ.

2.2. Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

Буфер 1, 100 ммоль/л, рН 6,7 [имидазол - 100 ммоль/л; Mg ацетат - 10 ммоль/л; глюкоза - 20 ммоль/л; ЭДТА - 2 ммоль/л; N-ацетилцистеин - 20 ммоль/л; НАДФ - 1,2 ммоль/л; Г-6-ФДГ $\geq 1,5$ МЕ/л; гексокиназа $\geq 2,5$ МЕ/л] - готов к применению - 1 флакон, 45 мл;

Субстрат 1 [креатинфосфат - 30 ммоль/л; АДФ - 2 ммоль/л; АМФ - 5 ммоль/л; диаденозинпентафосфат - 10 мкмоль/л] - готов к применению - 1 флакон] 5,0 мл;

Буфер 2, 100 ммоль/л, рН 6,7 [имидазол - 100 ммоль/л; Mg ацетат - 10 ммоль/л; глюкоза - 20 ммоль/л; ЭДТА - 2 ммоль/л; N-ацетилцистеин - 20 ммоль/л; НАДФ - 1,2 ммоль/л; Г-6-ФДГ $\geq 1,5$ МЕ/л; гексокиназа $\geq 2,5$ МЕ/л] - готов к применению - 1 флакон, 55 мл;

Субстрат 2 [креатинфосфат - 30 ммоль/л; АДФ - 2 ммоль/л; АМФ - 5 ммоль/л; диаденозинпентафосфат, антитела СК-ММ] - лиофилизат - 5 флаконов.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

3.1. Линейность

3.1.1. Линейная область определения общей активности креатинкиназы находится в диапазоне от 6 до 1040 МЕ/л, отклонение от линейности не более 5%.

3.1.2. Линейная область определения активности МВ-креатинкиназы находится в диапазоне от 12 до 1040 МЕ/л, отклонение от линейности не более 5%.

3.2. Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

3.3. Нормальные величины:

3.3.1. Общая активность креатинкиназы: мужчины - 52-200 МЕ/л;
женщины - 35-165 МЕ/л.

3.3.2. Активность МВ- креатинкиназы: до 25 МЕ/л;

4. Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора - класс 2а (ГОСТ Р 51609-2010)



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.

При работе с биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологических жидкостей человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать возбудителей различных инфекций.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- спектрофотометр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с фиксированным или переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,040 и 1,0 мл;
- перчатки хирургические резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Сыворотка крови. Образцы стабильны в течение 8 часов при температуре 18-25°C или 2 суток при 2-8°C.

7. Проведение анализа

7.1. Определение общей активности креатинкиназы.

Приготовление рабочего реагента: Смешать буфер 1 и субстрат 1 в соотношении 9:1. Рабочий реагент стабилен не менее 21 дня при температуре хранения 2-8°C в герметично закрытом флаконе.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА:

Непосредственно перед проведением анализа нагреть рабочий реагент до 37°C.

$\lambda = 340 \text{ нм}$.

$d = 1 \text{ см}$.

Температура измерения 37°C.

Измерение против воздуха.

Внести в кювету	Макроанализ, мл	Полумикроанализ, мл	Микроанализ, мл
Рабочий реагент	2,0	1,0	0,5
Сыворотка крови	0,08	0,04	0,02



Смешать и инкубировать при 37°C в течение 2 минут. Измерить $\Delta E/\text{мин}$ в течение 3-х минут. Вычислить среднее значение $\Delta E/\text{мин}$. Если значение $\Delta E/\text{мин}$ превышает величину 0,250 А/мин развести исследуемый образец физиологическим раствором, повторить анализ, а результат умножить на степень разведения.

7.2. Определение МВ-активности креатинкиназы.

Приготовление рабочего реагента: Растворить содержимое 1 флакона с лифилизатом субстрата 2 в 10 мл буфера 2. Рабочий реагент стабилен не менее 7 дней при температуре хранения 2-8°C в герметично закрытом флаконе.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА:

Непосредственно перед проведением анализа нагреть рабочий реагент до 37°C.

$\lambda = 340 \text{ нм}$.

$d = 1 \text{ см}$.

Температура измерения 37°C.

Измерение против воздуха.

Внести в кювету	Макроанализ, мл	Полумикроанализ, мл	Микроанализ, мл
Рабочий реагент	2,0	1,0	0,5
Сыворотка крови	0,08	0,04	0,02

Смешать и инкубировать при 37°C в течение 5 минут. Измерить $\Delta E/\text{мин}$ в течение 3-х минут. Вычислить среднее значение $\Delta E/\text{мин}$. Если значение $\Delta E/\text{мин}$ превышает величину 0,250 А/мин развести исследуемый образец физиологическим раствором, повторить анализ, а результат умножить на степень разведения.

8. Расчеты

1. Общая активность креатинкиназы: $\text{МЕ/л} = 4127 \times \Delta E/\text{мин}$.

2. МВ-активность креатинкиназы: $\text{МЕ/л} = 8254 \times \Delta E/\text{мин}$

9. Условия хранения и эксплуатации набора

Срок годности набора - 12 месяцев.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в темном месте при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.



Для проведения процедуры анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в ООО «НПФ Абрис+» по адресу: 196135, Россия, Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, Россия, С.Петербург, пр. Гагарина, 65 ; тел./факс:(812) 727-24-40, 727-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>.

Д.м.н., профессор

А.В.Козлов

Директор по науке
ООО «НПФ Абрис+», к.б.н.

Ю.Г.Попов

«СОГЛАСОВАНО»
Директор ЗАО «Вымпел-Медцентр»



В.П.Кондрашов