



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор ООО «Хоспитекс Диагностика»

К.А. Константинов

3 августа 2009 г.

М.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности общей креатинкиназы

ПРИНЦИП МЕТОДА

Фермент креатинкиназа (аденозин трифосфат: креатинин N-фосфотрансфераза; КК) катализирует превращение креатининфосфата и АДФ в креатин и АТФ. АТФ и глюкоза под действием гексокиназы превращаются в глюкозо-6-фосфат и АДФ. Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа окисляет глюкозо-6-фосфат в 6-фосфоглюконат, при этом NADP восстанавливается в NADPH. Скорость превращения NADP в NADPH, измеренная при 340 нм, пропорциональна активности КК. N-ацетилцистеин (НАС) добавлен как активатор КК.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент R1: буферный раствор (2x40 мл, 4x40 мл, 8x40 мл)
Имидазоловый буфер, pH 6,5.....29 ммоль/л
Ацетат магния.....10 ммоль/л
Глюкоза.....20 ммоль/л
ЭДТА.....2 ммоль/л
Реагент R2: буферно-ферментный раствор (2x10 мл, 4x10 мл, 8x10мл)
Креатинфосфат.....30 ммоль/л
N-ацетилцистеин.....20 ммоль/л
АДФ.....2 ммоль/л
АМФ.....5 ммоль/л
Ди(аденозин-5)пентафосфат.....12 мкмоль/л
Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа.....≥3000 Ед/л
Гексокиназа.....≥3000 Ед/л
Стабилизаторы и консерванты

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейную область определения активности общей креатинкиназы в диапазоне от 10 до 2000 Ед/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность не более 5 Ед/л, коэффициент вариации результатов определения – не более 5%.

Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины активности общей креатинкиназы в сыворотке крови человека составляют у мужчин: 24 – 204 Ед/л, у женщин 24 – 173 Ед/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории установить свой диапазон нормальных величин.

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови без гемолиза. Сыворотку следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови. Активность КК в сыворотке не стабильна и быстро уменьшается при хранении. КК инактивируется как от воздействия света, так и от увеличения pH вследствие потери оксида углерода.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагенты R1 и R2 содержат имидазол. Не допускать попадания на кожу и слизистые. 2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами. Не пипетировать ртом; при проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- спектрофотометр или фотозлектроколориметр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1 см;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы 40 и 1000 мкл;
- коническая колба вместимостью 100 мл;
- вода дистиллированная;
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента: смешать в конической колбе, вместимостью 100 мл, 4 объема реагента R1 и 1 объем реагента R2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами R1 и R2 непосредственно после каждого использования.

Рабочий реагент стабилен в течение 30 дней при хранении в защищенном от света месте при температуре 2-8 °С.

Рабочий реагент: 1000 мкл

Пробирки с рабочим реагентом необходимо предварительно прогреть в течение 5 минут при 37 °С.

Проба 40 мкл

Смешайте и инкубируйте в течение 60 секунд при 37 °С, затем измерьте оптическую плотность 3 раза с интервалом в 1 минуту. Рассчитайте изменение оптической плотности за 1 минуту ($\Delta ОП/мин$)

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Примечание: При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение образца к рабочему реагенту составляет 1:25).

Активность общей креатинкиназы определить по формуле:

$$A = \Delta ОП / мин \times 4127, \text{ где}$$

A – активность общей креатинкиназы, Ед/л;

$\Delta ОП/мин$ – изменение оптической плотности пробы за одну минуту, ед. опт. пл.;

4127 – фактор пересчета для выражения активности общей креатинкиназы в Ед/л (указывается в паспорте на набор)

Примечание: 1 Ед/л $\times 0,0167 = мкКат/л$

РАСЧЕТ

Хранение наборов должно производиться в темном месте при температуре + 2 – 8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяца.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре +2 – 8 °С в темном месте в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент необходимо хранить при температуре +2 – 8 °С в течение 30 дней в защищенном от света месте.

Если $\Delta ОП/мин$ больше или равно 0,250, разведите образец 1+9 физиологическим раствором для повторного разведения, а результат умножьте на 10.

Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдать инструкцию по применению набора.

По всем вопросам, касающимся набора, следует обращаться в ООО «Хоспитекс Диагностика» по адресу: 121552, г. Москва, а/я 43, тел/факс (495) 646-0505

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Начальник производства

А.А. Борисова

Главный врач ФГУ РКНПК Росмедтехнологий

В.К. Ситина

