



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20 г. № _____

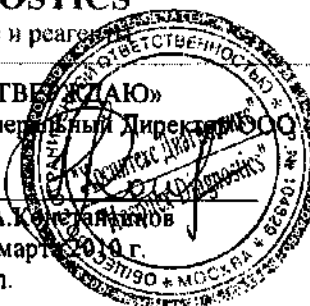
«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор ООО «Хоспитекс Диагностикс»

К.А. Косеняков

29 марта 2010 г.

М.п.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности изофермента креатинкиназы КК-MB

ПРИНЦИП МЕТОДА

Для определения кардиоспецифичного изофермента КК-MB, состоящего из двух субъединиц КК-M и КК-B, используется метод иммуоингибирования. Реагент включает антитела к субъединице «М», которая составляет также изофермент КК-MM (основная часть общей активности КК), и, связываясь, ингибируют ее активность, оставляя активной только «В» субъединицу изофермента. Измерение активности В-субъединицы кинетическим УФ-методом и умножение полученного результат на 2, даст активность КК-MB. N-ацетилцистеин (NAC) добавлен как активатор креатинкиназы.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент R1: (2x40 мл)
Имидазольный буфер, pH 6,7.....100 ммоль/л
Ацетат магния.....10 ммоль/л
Глюкоза.....20 ммоль/л
ЭДТА.....2 ммоль/л
Реагент R2: (1x21 мл)
Креатинфосфат.....100 ммоль/л
АДФ.....2 ммоль/л
АМФ.....5 мкмоль/л
NADP⁺.....2 ммоль/л
N-ацетилцистеин.....20 ммоль/л
Диаденозинпентафосфат.....10 мкмоль/л
Гексокиназа.....≥ 2500 Ед/л
Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа.....≥ 1500 Ед/л
Поликлональные антитела к КК-M – ингибируют активность до 2000 Ед/л

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейную область определения активности КК-MB в диапазоне от 1 до 1000 Ед/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность не более 2 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 КК-MB составляют до 24 Ед/л (до 6% от общей активности креатинкиназы).
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.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагенты содержат имидазол и поликлональные антитела. Не допускать попадания на кожу и слизистые. 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 фотоэлектроколориметр, 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;



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).

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 14 дней при хранении в защищенном от света месте при температуре 2-8 °C

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед определением активности КК-МВ в сыворотке крови необходимо измерить общую активность КК, используя СК-НАС метод. Антитела способны ингибировать до 2000 Е/л активности КК-ММ.

Рабочий реагент: 1000 мкл

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

Проба 40 мкл

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

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).

РАСЧЕТ

Активность холинэстеразы определить по формуле:

$$A = \Delta ОП / мин \times 8254, \text{ где}$$

A – активность холинэстеразы, Ед/л;

ΔОП/мин – изменение оптической плотности пробы за одну минуту, ед. опт. пл.;

8254 – фактор пересчета для выражения активности холинэстеразы в Ед/л (указывается в паспорте на набор)

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

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение наборов должно производиться в темном месте при температуре + 2 – 8 °C 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 °C в темном месте в течение 60 дней при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент необходимо хранить при температуре +2 – 8 °C в течение 14 дней в защищенном от света месте.

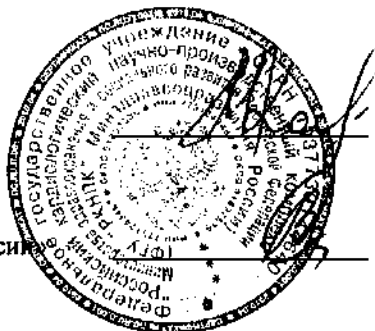
Если ΔОП/мин больше или равно 0,250, разведите образец 1+9 физиологическим раствором для повторного разведения, а результат умножьте на 10.

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

Начальник производства

Главный врач ФГУ «РКНПК Минздравсоцразвития России»



А.А. Борисова

В.К.Ситина