

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОН ДС»
_____ Корзун Т.Ю.
« 22 » 08 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

Набор реагентов для определения общей активности креатинкиназы кинетическим методом в сыворотке крови (КРЕАТИНКИНАЗА ДДС)

по ТУ 21.20.23.110-012-48813770-2016

НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

«Набор реагентов для определения общей активности креатинкиназы кинетическим методом в сыворотке крови (КРЕАТИНКИНАЗА ДДС)», по ТУ 21.20.23.110-012-48813770-2016 предназначен для определения общей активности креатинкиназы (КФК) кинетическим методом в сыворотке крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор реагентов (КРЕАТИНКИНАЗА ДДС) должен использоваться квалифицированным персоналом в области клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Количество определений зависит от объема фасовки и используемого биохимического анализатора.

СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Креатинкиназа (КФК) – фермент, который катализирует фосфорилирование АДФ в присутствии креатинфосфата, с образованием АТФ и креатина, играя, таким образом, важную роль в хранении и передаче химической энергии в пределах клетки. Он состоит из иммунологически различных М (muscle) и В (brain) субъединиц, существующих как три димерных изофермента: КФК-ММ (КФК-3), КФК-МВ (КФК-2) и КФК-ВВ (КФК-1). КФК-ММ и КФК-МВ распределены, прежде всего, в скелетных и сердечной мышцах, соответственно, в то время как КФК-ВВ присутствует, в основном, в мозгу и в тканях, состоящих из гладких мышц.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ

Повышенные значения КФК в первую очередь наблюдаются при повреждении сердечной мышцы и болезнях скелетных мышц. Измерение КФК, особенно в сочетании с КФК-МВ, используется для диагностики и мониторинга инфарктов миокарда.

Повышение уровня КФК может так же свидетельствовать о: травме, полимиозите, дерматомиозите, миокардите, алкоголизме, мышечной дистрофии, синдроме Рейе, отравлении, гипотермии, гипотиреозе, инфекционном заболевании, столбняке, лечении солями лития, отравлении снотворными средствами.

Набор реагентов (КРЕАТИНКИНАЗА ДДС) относится к вспомогательным средствам диагностики, клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, необходима консультация квалифицированного специалиста.

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов (КРЕАТИНКИНАЗА ДДС) может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку для подтверждения или опровержения диагноза при подозрении на инфаркт миокарда, для диагностики нарушения целостности мышечной ткани.

Показания для сдачи анализа на креатинкиназу: подозрение на инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца; гипертиреоз; миопатия Дюшенна в роду, если женщина планирует зачатие; миозит, миодистрофия.

Набор реагентов (КРЕАТИНКИНАЗА ДДС) предназначен только для однократного применения по назначению.

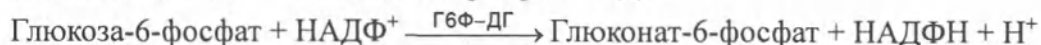
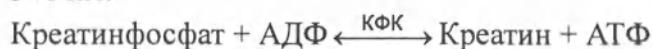
Противопоказаний не имеет.

МЕТОД

Оптимизированный УФ тест в соответствии с рекомендациями DGKC (Германское Общество Клинической Химии) и IFCC (Международная Федерация Клинической Химии и Лабораторной Медицины).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Креатинкиназа катализирует реакцию образования АТФ в присутствии креатинфосфата и АДФ. Гексокиназа при наличии АТФ катализирует реакцию фосфорилирования глюкозы с образованием глюкозо-6-фосфата. При наличии глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы реакция дегидрирования глюкозо-6-фосфата сопровождается образованием НАДФН. Скорость синтеза НАДФН, сопровождающаяся повышением оптической плотности образца, прямо пропорциональна активности креатинкиназы и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.



СОСТАВ НАБОРА

Варианты исполнения:

1. Вариант 1:

- 1.1. Реагент 1: буферно-ферментный раствор, pH 6,0, содержащий
- | | |
|-------------|--------------|
| имидазол | 60 ммоль/л |
| глюкозу | ≥20 ммоль/л |
| НАДФ | ≥2,0 ммоль/л |
| гексокиназу | ≥4,0 кЕ/л |
| азид натрия | 0,095% |

- 1.2. Реагент 2: субстратно-ферментный раствор, содержащий
- | | |
|-------------------------------|--------------|
| имидазол | 160 ммоль/л |
| креатинфосфат | ≥120 ммоль/л |
| АДФ | ≥8,0 ммоль/л |
| АМФ | ≥20 ммоль/л |
| глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу | ≥10 кЕ/л |
| азид натрия | 0,095% |

в следующих комплектациях:

- 1) Реагент 1: 1 флакон (20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (5,0 мл).

- 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл).
- 3) Реагент 1: 5 флаконов (по 80 мл);
Реагент 2: 1 флакон (100 мл).
- 4) Реагент 1: 2 флакона (по 68 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 17 мл).
- 5) Реагент 1: 6 флаконов (по 68 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 17 мл).
- 6) Реагент 1: 2 флакона (по 64 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 7) Реагент 1: 6 флаконов (по 64 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 8) Реагент 1: 2 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 9) Реагент 1: 6 флаконов (по 65 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 10) Реагент 1: 4 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 20 мл).
- 11) Реагент 1: 4 флакона (по 38 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 22 мл).
- 12) Реагент 1: 6 флаконов (по 24 мл);
Реагент 2: 3 флакона (по 13 мл).
- 13) Реагент 1: 6 флаконов (по 16 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 4,0 мл).
- 14) Реагент 1: 4 флакона (по 62 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 18 мл).
- 15) Реагент 1: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 5,0 мл).
- 16) Реагент 1: 2 флакона (по 40 мл);
Реагент 2: 1 флакон (20 мл).
- 17) Реагент 1: 4 флакона (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 18) Реагент 1: 4 флакона (по 24 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 8,0 мл).
- 19) Реагент 1: 4 флакона (по 35 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 20) Реагент 1: 6 флаконов (по 17 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 7,0 мл).
- 21) Реагент 1: 6 флаконов (по 33 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 12 мл).
- 22) Реагент 1: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (20 мл).
- 23) Реагент 1: 4 флакона (по 60 мл);
Реагент 2: 1 флакон (60 мл).
- 24) Реагент 1: 1 канистра (10000 мл);
Реагент 2: 1 канистра (2500 мл).
- 25) Реагент 1: 4 флакона (по 17 мл);
Реагент 2: 1 флакон (18 мл).
- 26) Реагент 1: 4 флакона (по 31 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 16 мл).

2. Вариант 2:

- 2.1. Реагент 1: буферно-ферментный раствор, рН 6,0, содержащий
- | | |
|-------------|--------------------|
| имидазол | 60 ммоль/л |
| глюкозу | ≥ 20 ммоль/л |
| НАДФ | $\geq 2,0$ ммоль/л |
| гексокиназу | $\geq 4,0$ кЕ/л |
| азид натрия | 0,095% |
- 2.2. Реагент 2: субстратно-ферментный раствор, содержащий
- | | |
|-------------------------------|--------------------|
| имидазол | 160 ммоль/л |
| креатинфосфат | ≥ 120 ммоль/л |
| АДФ | $\geq 8,0$ ммоль/л |
| АМФ | ≥ 20 ммоль/л |
| глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу | ≥ 10 кЕ/л |
| азид натрия | 0,095% |
- 2.3. Идентификационная метка
в следующих комплектациях:
- 1) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл);
Идентификационная метка: 1 штука.
 - 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 80 мл);
Реагент 2: 1 флакон (100 мл);
Идентификационная метка: 1 штука.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Линейность в диапазоне от 20 до 1500 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 15 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 5%.

При активности креатинкиназы в образце более 1500 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту $\Delta A/\text{мин}$ не должно превышать 0,3) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором (0,9% NaCl) в 10 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов рекомендуем проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N), контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных сывороток, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Значение креатинкиназы в TruCal U прослеживается до коэффициента молярной экстинкции в соответствии с оригинальной процедурой IFCC.

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании нового набора.

РЕФЕРЕНСНЫЕ/НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В сыворотке крови по W. Neil, V. Ehrhardt, 2008:

Возраст	Активность, Е/л	
Взрослые:	женщины	<180
	мужчины	<200
Дети:		
до 5 дней	<652	
до 6 мес	<295	
7-12 мес	<203	
1-3 года	<228	
4-6 лет	<149	
7-12 лет	<154 (мал)	<247 (дев)
13-17 лет	<123 (мал)	<270 (дев)

Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка (без гемолиза). Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови. Образцы сыворотки должны быть отделены от форменных элементов крови центрифугированием не позднее, чем через 30 минут после забора, так как содержащее эритроцитов ингибирует активность фермента. Если исследование не может быть произведено немедленно, сыворотку необходимо заморозить.

Стабильность:

2 дня при 15-25°C

7 дней при 2-8°C

4 недели (в темноте) при -20°C

Загрязненные образцы хранению не подлежат!

Замораживать образцы можно не более одного раза!

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2a (Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 № 4н).

В реагенте 1 и реагенте 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними соблюдайте осторожность и не допускайте попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рвоту. При необходимости обратитесь к врачу.

Все компоненты набора, в используемых концентрациях для *in vitro* диагностики, являются нетоксичными.

На маркировку реагента 1 и реагента 2, коробки с набором наносится графический символ  - *Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению* (по ГОСТ Р ИСО 15223-1).

Меры предосторожности – соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (Москва, 1981 г.).

При работе с набором надевайте 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.

Соблюдайте требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Биохимический анализатор, поддерживающий длину волны 340 нм;
- спектрофотометр, поддерживающий длину волны 340, с длиной оптического пути 1 см;
- термостат водяной;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 10 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (допустимая погрешность не более 3%);
- мультикалибратор TruCal U «DiaSys Diagnostic Systems GmbH»;
- посуда стеклянная мерная лабораторная;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.

Для приготовления Рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Для стабилизации компонентов раствора, рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20–30 мин при комнатной температуре (15–25°C). Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре 2–8°C в течение 3 недель и при комнатной температуре (15–25°C) не более 2 суток при условии достаточной герметичности флакона и отсутствии загрязнения.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время).

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовить согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

При наличии системы идентификации набора реагентов активировать анализатор с помощью Идентификационной метки способом, предусмотренным производителем анализатора.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.

Перед проведением анализа рабочий реагент следует прогреть при температуре $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в течение 10 минут.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблицах.

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Дистиллированная вода	50	–	–
Мультикалибратор	–	50	–
Образец	–	–	50
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 3 минуты, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Перемешать. Через 2 минуты измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 минуты при длине волны 340 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.			

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Дистиллированная вода	40	–	–
Мультикалибратор	–	40	–
Образец	–	–	40
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 3 минуты измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 минуты при длине волны 340 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.

Вычислить среднее значение $\Delta A/\text{мин}$ образца/мультикалибратора

Примечание: Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение образца к рабочему реагенту составляет 1:25).

РАСЧЕТЫ**По мультикалибратору**

$$\text{Активность КФК [Е/л]} = \frac{\Delta A/\text{мин}_{\text{оп}}}{\Delta A/\text{мин}_{\text{кал}}} \times \text{Активность КФК в мультикалибраторе [Е/л]},$$

где: $\Delta A/\text{мин}_{\text{оп}}$ – изменение оптической плотности опытной пробы в минуту, ед. опт. пл.;

$\Delta A/\text{мин}_{\text{кал}}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту,

ед. опт. пл.

По фактору (указан в паспорте к набору)

Определение активности КФК можно проводить по фактору, который указывается в паспорте к набору (фактор зависит от типа используемого анализатора). Рекомендуем уточнять значение фактора по мультикалибратору TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия), аттестованному по активности КФК методом IFCC или DGKC.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ (СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ)

Аскорбиновая кислота до 30 мг/дл, билирубин до 40 мг/дл, гемоглобин до 200 мг/дл и липемия до 2000 мг/дл триглицеридов не влияют на точность анализа. Дополнительных веществ (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.

**ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И
ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА**

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

Срок годности Идентификационной метки – ограничен моментом активации анализатора.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2-8°C не более 3 недель и при комнатной температуре (15-25°C) не более 2 суток при условии хранения в темноте, достаточной герметичности флакона и отсутствии загрязнения.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор (КРЕАТИНКИНАЗА ДДС) не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала, при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Изделие, пришедшее в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации.

Утилизацию или уничтожение Набора реагентов, неиспользованных реактивов, дезинфекцию следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» для Класа «Б» медицинских отходов и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

АО «ДИАКОН-ДС» гарантирует качество, эффективность и безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании набора реагентов по назначению в условиях, предусмотренных данной инструкцией по применению.

Гарантийные обязательства АО «ДИАКОН-ДС» распространяются с даты изготовления и на период срока годности медицинского изделия, при условии надлежащего транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора **КРЕАТИНКИНАЗА ДДС**, следует обращаться в АО «ДИАКОН-ДС» по адресу: 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Грузовая, д. 1а; тел. (495) 980-63-38, т/факс (495) 980-66-79.

РУ № ФСР 2007/01438

Инструкция утверждена 28 АВГ 2020.

Начальник Отдела Исследований и Разработок
АО «ДИАКОН-ДС», к.б.н.

О.Ю. Гудкова

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

« 07 » 09 2020 год



И.о. Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К. _____