

КОПИЯ ВЕРНА

[Handwritten signature]

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения и
социального развития



[Handwritten signature] Р.У.Хабриев

04

2005 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения общей активности
креатинкиназы в сыворотке крови
(КРЕАТИНКИНАЗА-ОЛЬВЕКС)

Рекомендована к утверждению научно-экспертным советом
по медицинским изделиям

Назначение

Набор КРЕАТИНКИНАЗА-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения каталитической активности креатинкиназы в сыворотке крови человека энзиматическим методом в клиничко-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 24 или 40 определений при расходе 2,5 мл рабочего реагента на один анализ.

Инструкция составлена директором по науке ООО «Ольвекс Диагностикум», к.б.н. З.А.Тушиковой и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПб МАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Принцип метода

Метод основан на оптическом тесте Варбурга с использованием сопряженных ферментативных реакций, приводящих к образованию в инкубационной среде НАДФН₂.

Скорость образования НАДФН₂ прямо пропорциональна активности креатинкиназы и регистрируется фотометрически при длине волны 340 нм.

Фосфокреатин + АДФ $\xleftarrow{\text{Креатинкиназа}}$ креатин + АТФ

АТФ + глюкоза $\xleftarrow{\text{Гексокиназа}}$ АДФ + глюкозо-6-фосфат

глюкозо-6-фосфат + НАДФ $\xleftarrow{\text{Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа}}$
6-фосфоглюконат + НАДФН₂

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (раствор буферный), рН 6,7, содержащий имидазол, 100 ммоль/л; ацетат магния, 10 ммоль/л; глюкозу, 20 ммоль/л; ЭДТА динатриевую соль, 2,0 ммоль/л; азид натрия 5,0 г/л; аденозинмонофосфат, 5,0 ммоль/л; N-ацетилцистеин, 20 ммоль/л; уксусную кислоту 0,1 моль/л до рН 6,7, готов к применению - 1 флакон (60 мл) или 1 флакон (100 мл);

- реагент 2 (лиофилизат), содержащий бычий сывороточный альбумин (БСА), 20 г/л; аденозиндифосфат, 20 ммоль/л; диаденозинпентафосфат, 0,1 ммоль/л; НАДФ, 20 ммоль/л; креатинфосфат, 300 ммоль/л; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу 20 000 Е/л; гексокиназу 30 000 Е/л - 3 флакона или 5 флаконов.

Аналитические характеристики

Набор обеспечивает линейную область определения общей активности креатинкиназы в диапазоне от 15 до 1000 Е/л, отклонение от линейности - не более 5%.

Чувствительность определения - не более 10 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины активности креатинкиназы в сыворотке крови при температуре измерения +37°C: у мужчин – до 190 Е/л, у женщин - до 165 Е/л.

Анализируемые образцы

Сыворотка крови без следов гемолиза.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2б.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят азид натрия и уксусная кислота. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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 набором следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета (+37°C) с длиной оптического пути 1,0 см; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор;

- секундомер;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,3^\circ\text{C}$;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1 мл и 2,5 мл;
- раствор хлорида натрия 0,9% (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

Примечание: Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

Приготовление рабочего реагента

Перед проведением анализа растворить содержимое 1 флакона реагента 2 в 20 мл реагента 1.

Рабочий реагент готов к применению не ранее, чем через 20 минут после растворения при комнатной температуре (+18-25°C).

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C не более 21 суток.

Тщательно закрывать флаконы непосредственно после каждого использования реагента.

Если активность креатинкиназы превышает 1000 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

Проведение анализа

Перед исследованием нагреть рабочий реагент до температуры +37°C; поддерживать температуру +37°C в течение всего времени проведения исследований.

В термостатируемую кювету фотометра (температура +37°C) внести 2.5 мл рабочего реагента и 0,1 мл сыворотки крови, тщательно перемешать, включить секундомер. Через 2 минуты измерить исходную оптическую плотность пробы против воздуха при длине волны 340 нм. Измерение оптической плотности повторить три раза с интервалом в 1 минуту.

Расчеты

Определить среднее арифметическое значение изменения оптической плотности опытной пробы за 1 минуту по данным трех измерений (ΔE /мин).

Расчет активности креатинкиназы провести по формуле:

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

где: A - активность креатинкиназы, Е/л:

ΔE /мин - среднее арифметическое значение изменения оптической плотности пробы за 1 минуту, ед. опт. плотн.:

4127 - фактор пересчета для выражения активности креатинкиназы в Е/л.

Примечание: 1 Е/л = 16,67 нмоль/(с×л)

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности. Возможно хранение набора при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 2 недель.

Срок годности набора - 12 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 21 суток.

Реагент 1 после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 3 месяцев.

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

По вопросам, касающимся качества набора КРЕАТИНКИНАЗА-ОЛЬВЕКС, следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02;

Факс: (812) 567-84-29

и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум»

канд.биол.наук



З.А.Тупикова

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики СПбМАПО,
д.м.н., профессор



А.В.Козлов