

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2024 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
МВ-фракции креатинкиназы в сыворотке и плазме крови кинетическим УФ-методом
(Креатинкиназа МВ IFCC)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения активности МВ-фракции креатинкиназы в сыворотке и плазме крови кинетическим УФ-методом «Креатинкиназа МВ IFCC» предназначен для количественного определения активности МВ-фракции креатинкиназы (КФК-МВ) в сыворотке и плазме крови человека кинетическим иммунологическим УФ-методом.

1.2. Набор выпускается в *пяти* вариантах комплектации:

Вариант комплектации	Количество определений, от	Расход Р1 на одно определение, мл	Фасовка	Используемый анализатор
1	200	0,40	4×20 мл (P1); 4×5 мл (P2);	Любой
2	1070	0,16	4×48 мл (P1); 4×14 мл (P2);	MIURA (Миура)
3	1074	0,12	4×42 мл (P1); 2×22 мл (P2);	ILab Taurus (Таурус)
4	475	0,16	2×40 мл (P1); 1×20 мл (P2);	BA400
5	346	0,16	2×36 мл (P1); 2×10 мл (P2)	Aspect (Аспект)

Количество определений зависит от объема фасовки (варианта комплектации), расхода реагента 1 (P1) и реагента 2 (P2) на одно измерение и от технических характеристик используемого биохимического анализатора, при сохранении соотношения образец: реагент 1: реагент 2.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: начальником отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой и ведущим биотехнологом Т.И. Суменко.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Креатинкиназа катализирует в присутствии АДФ и креатинфосфата синтез АТФ, который с участием гексокиназы фосфорилирует глюкозу с образованием глюкозо-6-фосфата. В присутствии глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы происходит реакция окисления глюкозо-6-фосфата и сопряженная с ней реакция восстановления НАДФ в НАДФН. Скорость восстановления НАДФ прямо пропорциональна активности креатинкиназы и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

В реакционную смесь введены антитела к М-субъединице креатинкиназы. КФК-МВ состоит из двух субъединиц – КФК-М и КФК-В. Антитела полностью ингибируют М-субъединицу, не влияя на активность В-субъединицы. В тесте определяется активность только В-субъединицы. Полученная активность, умноженная на 2, представляет собой активность МВ-фракции креатинкиназы.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- реагент 1 (P1): буферный раствор, содержащий: α -D-глюкозу; магния ацетат; гексокиназу; β -никотинамидадениндинуклеотид фосфат (β -НАДФ); этилендиаминтетрауксусной кислоты динатриевую соль; N-ацетилцистеин; аденозинмонофосфат; диаденозинпентафосфат; натрия азид (0,1%); моноклональные антитела, ингибирующие М-субъединицу креатинкиназы; pH $6,7 \pm 0,2$;
- реагент 2 (P2): раствор, содержащий имидазол; креатинфосфат; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; аденозиндифосфат; натрия азид (0,095%);

Состав вариантов комплектации:

- 1) – реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл);
– реагент 2 – 4 флакона (по 5 мл);
- 2) – реагент 1 – 4 флакона (по 48 мл);
– реагент 2 – 4 флакона (по 14 мл);
для автоматического анализатора MIURA;
- 3) – реагент 1 – 4 флакона (по 42 мл);
– реагент 2 – 2 флакона (по 22 мл);
для автоматического анализатора ILab Taurus;
- 4) – реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл);
– реагент 2 – 1 флакон (20 мл);
для автоматического анализатора BA400;
- 5) – реагент 1 – 2 флакона (по 36 мл);
– реагент 2 – 2 флакона (по 10 мл);
для автоматического анализатора Aspect.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. *Чувствительность – не более 5 Е/л.

3.2. *Линейность в диапазоне активности МВ-фракции креатинкиназы 15 - 1000 Е/л – отклонение не более 5%.

3.3 *Тест на «открытие» – отклонение не более 5%.

3.4. *Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5%.

3.5.*Допустимый разброс результатов при параллельных определениях одной пробы разными наборами одной серии - не более 5%.

3.6. Диапазон измерения – 5-1000 Е/л.

3.7. Нормальные величины активности МВ-фракции креатинкиназы (при температуре 37 °С) – до 25 Е/л.

3.8. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин активности МВ-фракции креатинкиназы у обследуемого контингента людей.

*В соответствии с ГОСТ Р 51352-2013

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор реагентов предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

4.3. Реагент 1 содержит натрия азид (0,1 %); реагент 2 содержит натрия азид (0,095%). При работе с набором следует избегать разбрызгивания и попадания компонентов набора на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть поражённое место большим количеством проточной воды.

4.4. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4.6. Дезинфекцию посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- биохимический анализатор (длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм), поддерживающий температуру жидкости в кювете в процессе анализа $37 \pm 0,5$ °C; (для варианта комплектации 1);
- биохимический анализатор MIURA (для варианта комплектации 2);
- биохимический анализатор ILab Taurus (для варианта комплектации 3);
- биохимический анализатор BA400* (для вариантов комплектации 4);
- биохимический анализатор Aspect* (для варианта комплектации 5);
- дозаторы полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 20-100 мкл и 100-1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 0,5$ °C;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- вода дистиллированная;
- раствор натрия хлорида изотонический 0,9 % для инъекций;
- дезинфицирующий раствор.

*Примечание. Допускается применение оборудования другого типа, по своим характеристикам не уступающего рекомендуемому.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная и ЭДТА плазма крови. Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 ч после взятия крови.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре от 18 до 25 °C не более 2 сут, при температуре от 2 до 8 °C – не более 7 сут или при температуре минус 20 °C и ниже – не более 1 мес. Повторное размораживание образцов сыворотки крови не допускается.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1. Однореагентная процедура (запуск реакции образцом) (для варианта комплектации 1).

Объединить реагент 1 с реагентом 2 в соотношении 4:1 и тщательно перемешать.

Приготовленный рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °C не более 2 нед или при комнатной температуре от 18 до 25 °C не более 1 сут.

Перед началом работы рабочий раствор реагентов нагреть до температуры анализа $37 \pm 0,5$ °C. На протяжении всего анализа поддерживать температуру пробы (смеси рабочего раствора реагентов и образца) $37 \pm 0,5$ °C.

К 500 мкл рабочего раствора реагентов добавить 20 мкл анализируемого образца,

перемешать. Через 5 мин измерить оптическую плотность (E_i) анализируемой пробы при длине волны 340 нм. Повторить измерения 3 раза с интервалом времени 1 мин.

Примечание. Расход реагента 1 (P1) и реагента 2 (P2) на одно измерение зависит от используемого биохимического анализатора, количество реагента и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (при сохранении соотношения образец:рабочий раствор реагентов - 1:25).

7.2. Двухреагентная процедура (запуск реакции субстратом).

Реагенты готовы к использованию.

Перед началом работы реагенты нагреть до температуры анализа $37 \pm 0,5$ °C. На протяжении всего анализа поддерживать температуру пробы (смеси реагентов и образца) $37 \pm 0,5$ °C.

К 400 мкл реагента 1 добавить 20 мкл анализируемого образца, перемешать. Инкубировать пробу в течение 1-5 мин при температуре $37 \pm 0,5$ °C. Добавить 100 мкл реагента 2, перемешать. Далее проводить анализ, как описано в однореагентной процедуре.

Примечание. Расход реагента 1 (P1) и реагента 2 (P2) на одно измерение зависит от используемого биохимического анализатора, количество реагента и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (при сохранении соотношения образец:реагент 1:реагент 2 - 1:20:5).

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассчитать среднее изменение оптической плотности анализируемой пробы за 1 минуту ($\Delta \bar{E} / \text{мин}$) по формуле:

$$\Delta \bar{E} / \text{мин} = \frac{60}{n \times t} \sum_{i=1}^n \Delta E_i$$

где: ΔE_i – изменение оптической плотности пробы за интервал времени t , ед. опт. плотн;

n – количество интервалов времени;

60 – коэффициент пересчета секунд в минуты.

Активность МВ-фракции креатинкиназы (А) в анализируемом образце, Е/л, определить по формуле:

$$A = (\Delta \bar{E} / \text{мин}) \times F$$

где: F – фактор пересчета.

$$F = 8254 / \ell$$

ℓ – длина оптического пути, см;

8.2. Если величина активности МВ-фракции креатинкиназы в анализируемом образце превышает 1000 Е/л, образец следует разбавить в 2 раза раствором натрия хлорида изотонического 0,9 % для инъекций, измерения повторить, полученный результат умножить на 2.

8.3. Для получения результатов в мккат/л необходимо полученный результат разделить на 60.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Реагенты после вскрытия флакона можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте и при отсутствии экзогенного загрязнения.

9.5. Качество набора может быть проверено с использованием контрольных материалов, аттестованных данным методом.

9.6. При работе на автоматических биохимических анализаторах рекомендуется использовать калибратор на основе сыворотки крови, зарегистрированный в Российской Федерации, аттестованный данным методом.

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

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируется в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «Креатинкиназа MB IFCC», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492, тел. (383) 227-75-50, тел./факс (383) 252-51-77.

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

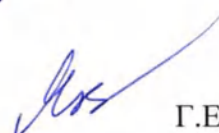
Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Изготовитель		Дата изготовления
	Код партии		Обратитесь к инструкции по применению или инструкции по применению в электронном виде
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Осторожно		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Температурный диапазон

Ведущий биотехнолог отдела биохимии
АО «Вектор-Бест»



Т.И. Суменко

Начальник отдела биохимии
АО «Вектор-Бест», к.б.н.



Г.Е. Яковлева

«СОГЛАСОВАНО»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор



Т.И. Поспелова



2024 г



Пропиновано, пронумеровано и
скреплено печатью 5 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.
"13" 06 2024 г.

