УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»
_____ Е.Н.Схолль-Энгбертс
«16» февраля 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
активности МВ-изозима креатинкиназы в сыворотке крови
оптимизированным кинетическим иммунологическим методом

(КРЕАТИНКИНАЗА МВ-ВИТАЛ)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор КРЕАТИНКИНАЗА МВ-ВИТАЛ предназначен для количественного определения активности МВ-изозима креатинкиназы в сыворотке крови оптимизированным кинетическим иммунологическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 или 200 определений при расходе 0,5 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Креатинкиназа (КК) катализирует реакцию образования АТФ из креатинфосфата и АДФ; гексокиназа в присутствии АТФ фосфорилирует глюкозу с образованием глюкозо-6-фосфата. В реакции дегидрирования глюкозо-6-фосфата под действием глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы образуется НАДФН. Скорость восстановления НАДФ в НАДФН пропорциональна активности креатинкиназы в анализируемом образце сыворотки крови и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм. В реакционную смесь введены специфические антитела против М-субъединицы креатинкиназы (КК-М), полностью ингибирующие активность КК-ММ изозима и половину активности, приходящейся на долю КК-МВ изозима. В тесте определяется только активность КК-В, составляющая половину активности КК-МВ. Благодаря добавлению в реакционную смесь двух дополнительных ферментов (6-фосфоглюконолактоназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы), конверсия 6-фосфоглюконолактона, образовавшегося при дегидрировании глюкозо-6-фосфата, продолжается, что приводит к образованию еще одной молекулы НАДФН, т.е. за один цикл реакций дефосфорилирования креатинфосфата образуются две молекулы НАДФН, и чувствительность определения возрастает в 2 раза.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: буфер, pH 6,7, содержащий имидазол, 100 ммоль/л; глюкозу, 20 ммоль/л; магния ацетат, 10 ммоль/л - 1 флакон (50 мл) или 2 флакона (по 50 мл);
- реагент 2: лиофилизат [конечная концентрация в рабочем реагенте: β-никотинамидадениндинуклеотидфосфат (β-НАДФ), 2 ммоль/л; креатинфосфат, 30 ммоль/л; N-ацетил-L-цистеин, 2 ммоль/л; диаденозин-5-пентафосфат, 10 мкмоль/л; АДФ, 2 ммоль/л; АМФ, 5 ммоль/л; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 1500 Е/л; гексокиназа, 2500 Е/л; 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, 600 Е/л; 6-фосфоглюконолактоназа, 1200 Е/л; КК-М ингибирующие антитела, 2000 Е/л; этилендиаминтетрауксусной кислоты натриевая соль, 2 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин, 0,08%] - 5 флаконов или 10 флаконов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения активности МВ-изозима креатинкиназы – в диапазоне от 5 до 650 Е/л, отклонение от «линейности» - не более 5 %.

Чувствительность определения – не более 4,5 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 МВ-изозима креатинкиназы в сыворотке крови – до 25 Е/л при температуре +37°С.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента.

ОБРАЗЦЫ

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора - класс 2а.

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 СССР» (Москва, 1981 г).

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Г». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Г».

Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор открытого типа;
- термостат, обеспечивающий температуру +37±1°С;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,02; 0,5 мл и 10 мл;
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента

Содержимое одного флакона с регентом 2 растворить в 10 мл реагента 1, тщательно перемешать до полного растворения лиофилизата и выдержать раствор при комнатной температуре (+18-25°С) в течение 10-20 мин.

Полученный рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре +2-8°С не более 5 дней.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Все определения необходимо проводить при температуре +37°С. Рабочий реагент перед применением следует прогреть до температуры +37°С в течение 5 мин и в процессе всего определения хранить при температуре +37°С.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В термостатируемую (+37°С) кювету спектрофотометра с длиной оптического пути 10 мм внести 0,5 мл рабочего реагента, подогретого до температуры +37°С, и добавить 0,02 мл сыворотки крови. Пробу тщательно перемешать, инкубировать в течение 5 мин при температуре +37°С и измерить оптическую плотность раствора при длине волны 340 нм против воздуха. Включить секундомер и 3 раза повторно измерить в аналогичных условиях оптическую плотность раствора с интервалом 1 мин (точно!). Рассчитать среднюю арифметическую величину изменения оптической плотности раствора за 1 мин (ΔЕ/мин).

РАСЧЕТЫ

Активность МВ-изозима креатинкиназы в сыворотке крови (Е/л) определить по формуле:

$$A=\Delta E/\text{мин} \times F$$

где: А - активность МВ-изозима креатинкиназы, Е/л;

ΔЕ/мин - изменение оптической плотности пробы за 1 мин, ед. опт. плотн./мин;

F - фактор пересчета для получения активности в Е/л (указывается в паспорте на набор).

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°С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°С не более 5 дней.

Срок годности набора - 12 мес.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°С не более 5 дней.

Реагент 1 после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8°С в темном месте в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флакона.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

При активности МВ-изозима креатинкиназы в сыворотке крови выше 650 Е/л пробу следует развести физиологическим раствором, повторить анализ и результат умножить на разведение.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д.27, корп. 38, лит. К, пом. 18, 19.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России:

125 284, Москва, 2 Боткинский проезд, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России,
д.м.н., профессор В.В.Долгов

26 ЯНВ 2015

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru