Версия 1-2020

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____А.Г. Плехов

«9» января 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
общей активности креатинкиназы в сыворотке (плазме) крови
оптимизированным энзиматическим кинетическим методом

«КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ»,
ТУ 21.20.23-069-94568735-2020

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения общей активности креатинкиназы в сыворотке (плазме) крови оптимизированным энзиматическим кинетическим методом «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» предназначен для количественного определения общей активности креатинкиназы в сыворотке (плазме) крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» предназначен для лабораторной in vitro диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора – определение общей активности креатинкиназы в сыворотке (плазме) крови в целях диагностики, мониторинга и контроля терапии при заболеваниях сердечно-сосудистой системы (в особенности при инфаркте миокарда), при заболеваниях мышц, при заболеваниях центральной нервной системы.

Целевой аналит. Физиологическая роль креатинкиназы (КК) определяется ее ферментативной активностью: КК катализирует обратимую реакцию фосфорилирования креатина с образованием АДФ и креатинфосфата – макроэргического соединения, играющего важную роль в энергетическом обмене мышечной, нервной и других тканей. Креатинфосфат участвует во внутриклеточном переносе энергии, необходимой для осуществления мышечного сокращения, и используется преимущественно при резком дефиците энергии, например, в случае тяжелых физических нагрузок. КК содержится в цитоплазме клеток сердечной мышцы и скелетной мускулатуры, в клетках головного мозга, в меньшем количестве – в клетках щитовидной железы, матки, легких. Повышение общей активности КК в сыворотке (плазме) крови происходит вследствие выхода фермента из клеток при их повреждении.

Креатинкиназа состоит из двух типов субъединиц – М и В. Выделяют три изофермента КК: ММ (мышечный), МВ (сердечный) и ВВ (мозговой), которые различаются по физико-химическим и иммунологическим свойствам, но совпадают по функциональной роли.

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

Повышение общей активности КК может отмечаться во многих случаях: при травматических повреждениях головного мозга и скелетной мускулатуры; при заболеваниях мышц (полимиозит, дерматомиозит, миодистрофия всех типов); при нервно-мышечных заболеваниях (миастения); при острых и хронических заболеваниях сердечно-сосудистой системы (инфаркт миокарда, миокардит, застойная сердечная недостаточность); при заболеваниях центральной нервной системы (эпилепсия, шизофрения, маниакально-депрессивный психоз); при общехирургических и нейрохирургических оперативных вмешательствах; при гипотиреозе; на фоне большой физической нагрузки (тяжелая физическая работа, выполнение спортивных упражнений). Наиболее широкое распространение данный тест получил при диагностике инфаркта миокарда. Общая активность КК возрастает у 92-99% больных с инфарктом миокарда, причем начало роста может наблюдаться уже через 2-3 часа после приступа, максимум активности достигается в течение 24-36 часов, а на 5-6 сутки (при обширном инфаркте – на 8 сутки) возвращается к норме. Данный тест имеет большое значение также для выявления повторных инфарктов, не дающих четкой картины изменений на ЭКГ.

Снижение общей активности КК не имеет клинического значения.

1.3. Набор реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Набор выпускается в следующих вариантах исполнения:

Комплект 1:
- реагент 1 – 1 флакон (40 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (10 мл).

Комплект 2:
- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 10 мл).

Комплект 3:
- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 12 мл).

Комплект 4:
- реагент 1 – 4 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 12 мл).

Комплект 5:
- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 5 мл).

Комплект 6:
- реагент 1 – 8 флаконов (по 20 мл),
- реагент 2 – 8 флаконов (по 5 мл).

Комплект 7:
- реагент 1 – 2 флакона (по 52 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 15 мл).

Комплект 8:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 52 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 15 мл).

Комплект 9:
- реагент 1 – 2 флакона (по 72 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл).

Комплект 10:
- реагент 1 – 4 флакона (по 72 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 20 мл).

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

Комплект 11:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 72 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 20 мл).
Комплект 12:
- реагент 1 – 4 флакона (по 68 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 20 мл).
Комплект 13:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 68 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 20 мл).
Комплект 14:
- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (20 мл).
Комплект 15:
- реагент 1 – 4 флакона (по 38 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл).

Варианты исполнения набора рассчитаны на следующее количество анализов*:
Комплект 1 – 100 определений,
Комплект 2 – 200 определений,
Комплект 3 – 400 определений,
Комплект 4 – 800 определений,
Комплект 5 – 360 определений,
Комплект 6 – 720 определений,
Комплект 7 – 540 определений,
Комплект 8 – 1620 определений,
Комплект 9 – 840 определений,
Комплект 10 – 1680 определений,
Комплект 11 – 2520 определений,
Комплект 12 – 1480 определений,
Комплект 13 – 2220 определений,
Комплект 14 – 320 определений,
Комплект 15 – 640 определений.

*В зависимости от параметров для ввода, указанных в руководстве пользователя для анализатора.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. Креатинкиназа 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. Реакция производится кинетическим методом. Скорость восстановления НАДФ в НАДФН пропорциональна общей активности креатинкиназы в анализируемом образце и измеряется фотометрически по увеличению оптической плотности при длине волны 340 (334, 365) нм.

2.2. Набор реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» может быть использован на спектрофотометрах, полуавтоматических или автоматических биохимических анализаторах с возможностью выполнения измерения при длине волны 340 (334, 365) нм при температуре инкубации +37°С.

Использование Набора реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

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

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: имидазол, 100 ммоль/л; глюкоза безводная, 20 ммоль/л; магния ацетат, 10 ммоль/л; гексокиназа, 2500 Е/л; β-никотинамидадениндинуклеотидфосфат (β-НАДФ), 2 ммоль/л; этилендиаминтетрауксусной кислоты натриевая соль (ЭДТА), 2 ммоль/л; N-ацетил-L-цистеин, 2 ммоль/л, готов к использованию:
  - комплект 1 - 1 флакон (40 мл),
  - комплект 2 - 2 флакона (по 40 мл),
  - комплект 3 - 2 флакона (по 40 мл),
  - комплект 4 - 4 флакона (по 40 мл),
  - комплект 5 - 4 флакона (по 20 мл),
  - комплект 6 - 8 флаконов (по 20 мл),
  - комплект 7 - 2 флакона (по 52 мл),
  - комплект 8 - 6 флаконов (по 52 мл),
  - комплект 9 - 2 флакона (по 72 мл),
  - комплект 10 - 4 флакона (по 72 мл),
  - комплект 11 - 6 флаконов (по 72 мл),
  - комплект 12 - 4 флакона (по 68 мл),
  - комплект 13 - 6 флаконов (по 68 мл),
  - комплект 14 - 2 флакона (по 40 мл),
  - комплект 15 - 4 флакона (по 38 мл).
- реагент 2: креатинфосфат, 30 ммоль/л; диаденозин-5'-пентафосфат, 10 мкмоль/л; аденозиндифосфат (АДФ), 2 ммоль/л; аденозинмонофосфат (АМФ), 5 ммоль/л; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 1000 Е/л, готов к использованию:
  - комплект 1 - 1 флакон (10 мл),
  - комплект 2 - 2 флакона (10 мл),
  - комплект 3 - 2 флакона (по 12 мл),
  - комплект 4 - 4 флакона (по 12 мл),
  - комплект 5 - 4 флакона (по 5 мл),
  - комплект 6 - 8 флаконов (по 5 мл),
  - комплект 7 - 2 флакона (по 15 мл),
  - комплект 8 - 6 флаконов (по 15 мл),
  - комплект 9 - 2 флакона (по 20 мл),
  - комплект 10 - 4 флакона (по 20 мл),
  - комплект 11 - 6 флаконов (по 20 мл),
  - комплект 12 - 4 флакона (по 20 мл),
  - комплект 13 - 6 флаконов (по 20 мл),
  - комплект 14 - 1 флакон (20 мл),
  - комплект 15 - 2 флакона (по 20 мл).

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения креатинкиназы – в диапазоне 7-1300 Е/л.

Чувствительность определения – 5 Е/л.

Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ»: такие потенциально интерферирующие вещества, как гемоглобин до концентрации 11,9 г/л, билирубин до концентрации 267 мкмоль/л и триглицериды до концентрации 11,7 ммоль/л не влияют на правильность определения общей активности креатинкиназы.

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

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным материалам, аттестованным данным методом и зарегистрированным в установленном порядке.

Нормальные величины общей активности креатинкиназы в сыворотке (плазме) крови при температуре измерения +37°С у женщин составляют 35-165 Е/л, у мужчин - 50-190 Е/л.

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

Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ», установлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.2-2008.

5. ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови или плазма крови (ЭДТА, гепарин).

Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови, образцы сыворотки (плазмы) должны быть отделены от клеток крови центрифугированием.

Образцы можно хранить в темном месте не более 2 суток при температуре +2-8°С или не более 1 месяца при температуре -18°С. Повторное замораживание образцов не допускается. Пробирки с образцами следует плотно закрывать.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 и СП 1.3.2322-08.

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

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- спектрофотометр, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения измерения при длине волны 340 (334, 365) нм при температуре инкубации +37°С;
- термостат, обеспечивающий температуру 37±1°С;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- микропробирки вместимостью 1-2 мл;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Анализ можно выполнять двумя способами: биреагентным методом или монореагентным методом (с приготовлением рабочего реагента).

Подготовка к анализу монореагентным методом.

Приготовление рабочего реагента: внести в колбу коническую необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1 и тщательно перемешать.

Подготовка к анализу биреагентным методом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

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

Непосредственно перед использованием нагреть кювету измерительного прибора, рабочий реагент (при проведении анализа монореагентным методом) или реагенты 1 и 2 (при проведении анализа биреагентным методом) до температуры +37°С.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 340 (334, 365) нм;

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +37°С;

Фотометрирование: против воды или рабочего реагента.

Проведение анализа монореагентным методом:

В термостатируемую (37°С) кювету спектрофотометра внести 0,5 мл рабочего реагента, добавить 0,02 мл анализируемой сыворотки (плазмы) крови, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 1 минуту, измерить оптическую плотность (Е) при длине волны 340 нм. Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Примечание. Расход рабочего реагента и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы.

Проведение анализа биреагентным методом:

В термостатируемую (37°С) кювету спектрофотометра внести 0,4 мл реагента 1, добавить 0,02 мл анализируемой сыворотки (плазмы) крови, пробу тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту, добавить 0,1 мл реагента 2, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 1 минуту, добавить 0,1 мл реагента 2, пробу тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту, измерить оптическую плотность (Е) при длине волны 340 нм. Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Примечание. Расход реагентов 1, 2 и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы.

10. РАСЧЕТЫ

Изменение оптической плотности за 1 минуту ($\Delta E / мин$) определить по формуле:

$$\Delta E / мин = \frac{\Delta E_n}{t},$$

где: ΔE_n – изменение оптической плотности пробы, ед. опт. плотн.;

t – интервал времени между определениями, мин.

Общую активность креатинкиназы (A) в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови определить по формуле:

$$A = \Delta E / мин \times F,$$

где: $\Delta E / мин$ – изменение оптической плотности пробы за 1 минуту, ед. опт. плотн.;

F – фактор пересчета для выражения активности креатинкиназы в Е/л (указывается в паспорте на набор).

Примечание.

Коэффициент пересчета единиц измерения 1 Е/л = 16,67 нмоль/(с×л).

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения общей активности креатинкиназы в сыворотке (плазме) крови оптимизированным энзиматическим кинетическим методом «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» должен храниться при температуре +2-8°С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°С не более 5 суток.

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

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре +2-8°С. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25°С не более 5 суток.

Замораживание компонентов набора не допускается. Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Срок годности набора – 12 месяцев. До окончания срока годности набора, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических и диагностических характеристик набора заявленным. Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности. Набор реагентов не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°С в темном месте не более 3 месяцев при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент после приготовления можно хранить при температуре +2-8°С в темном месте не более 14 суток или при комнатной температуре (+18-25°С) не более 4 суток при условии достаточной герметичности флаконов.

Реагенты 1 и 2 можно хранить на борту анализатора при температуре +2-8°С не более 1 месяца при условии круглосуточного охлаждения. Стабильность калибровки сохраняется не более 1 месяца.

Рабочий реагент можно хранить на борту анализатора при температуре +2-8°С не более 14 суток при условии круглосуточного охлаждения.

Если значение общей активности креатинкиназы в анализируемой пробе превышает 1300 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

Производитель набора АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» произвел верификацию и валидацию набора реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ». Результаты верификации и валидации, отраженные в протоколах предварительных испытаний опытных партий набора, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

В процессе верификации и валидации набора реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» была проведена оценка стабильности набора при хранении, использовании и транспортировке (ГОСТ Р ИСО 23640-2015); результаты, отраженные в протоколах стабильности набора и его компонентов, соответствуют заявленным срокам годности при хранении, использовании и транспортировке в соответствующих условиях.

В процессе разработки набора реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» были оценены риски, связанные с возможным изменением параметров проведения анализа в лабораториях потребителей: изменение температуры и времени инкубации.

Оценка проводилась в соответствии с МИ СМК 07 по ИСО 14971:2011. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа могут привести к получению неверных результатов исследования.

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

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

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

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор реагентов «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ» для биохимических исследований разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

15. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора «КРЕАТИНКИНАЗА-ВИТАЛ», следует обращаться к производителю - в Акционерное Общество “Витал Девелопмент Корпорэйшн” (АО “Витал Девелопмент Корпорэйшн”) по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 702-10-86

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» * МОСКВА * 1127746932674

20 АПР 2020

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