

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2010 г. № _____ -Пр/10

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей компании

ООО «Эйлитон» ООО «Юнимед-менеджмент»

А.Н.Шибанов

2010г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности лактатдегидрогеназы в сыворотке или плазме крови человека УФ-кинетическим методом «ЛДГ - UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

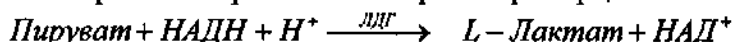
1.1. Набор реагентов «ЛДГ-UTS» предназначен для определения активности общей лактатдегидрогеназы в сыворотке крови человека кинетическим методом, рекомендованным Немецким обществом Клинической Химии (DGKC) в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (комплект 1); 125 (комплект 2); 200 определений (комплект 3) или 500 определений (комплект 4) при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) катализирует восстановление пирувата молекулой НАДН в слабощелочной среде. Скорость уменьшения концентрации НАДН измеряется фотометрически при 340 нм и прямо пропорциональна активности ЛДГ в образце.



2.2. Диагностическая значимость

ЛДГ – цитоплазматический фермент, присутствующий в разных изоформах во всех тканях человека. Активность общей ЛДГ измеряют при диагностике и лечении заболеваний сердца (в первую очередь инфаркта миокарда), печени, крови или мышц. Определение соотношения уровней активности ЛДГ и других ферментов, а также отдельных изоферментов ЛДГ, служит для дифференциации заболеваний.

2.3. Состав набора

Компоненты и их состав:

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 (Р1) Буферный раствор	Имидазол Пируват	65 ммоль/л 0,6 ммоль/л
Реагент 2 (Р2) Субстратный раствор	НАДН	0,18 ммоль/л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения активности лактатдегидрогеназы от 5 Е/л до 2500 Е/л, отклонение от линейности не превышает 5%.

3.2. Чувствительность – не более 5 Е/л.

3.3. Воспроизводимость: коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.4. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованные по значению активности ЛДГ методом DGKC.

3.4. Для калибровки автоматизированных фотометрических систем рекомендуется использовать сывороточные калибраторы, аттестованные по значению активности ЛДГ методом DGKC.

3.5. Нормальные величины активности лактатдегидрогеназы в сыворотке или плазме взрослого человека составляют 240-480 Е/л.

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

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

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 340 нм, термостатируемая при 25, 30 или 37⁰ (±0,5⁰С) кювета с длиной оптического пути 10 мм*
- Термостат или водяная баня, обеспечивающие температуру 25, 30 или +37⁰ (±0,5⁰С)
- Секундомер
- Пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 20, 40 и 1000 мкл
- Цилиндры мерные объемом 25 и 100 мл
- Колба коническая вместимостью не менее 150 мл
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор)
- Вода дистиллированная или деионизированная.
- Перчатки резиновые или пластиковые.

***Внимание:** при использовании кювет с длиной оптического пути, отличной от 10 мм, требуется перерасчет фактора набора. При использовании биохимического анализатора с ненормированной длиной оптического пути требуется калибровка по сывороточным калибраторам, аттестованным по значению активности ЛДГ методом DGKC.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Негемолизированная сывортка или плазма крови. Не использовать оксалат в качестве антикоагулянта, так как он ингибирует ЛДГ.

6.2. Сывортку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

6.3. Образцы сывортки и плазмы крови стабильны при температуре +2-8⁰С не более 2 дней, или 1 месяца при -20⁰С.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. **Приготовление рабочего реагента:** смешать в колбе конической 4 объема Реагента 1 и 1 объем Реагента 2, отмеренные мерными цилиндрами. Раствор рабочего реагента стабилен 15 дней при температуре 2-8⁰С или 5 суток при 18-25⁰С.

7.2. Раствор рабочего реагента прогреть до выбранной температуры (25, 30 или 37⁰С).

7.3. Компоненты реакционной смеси отбирать в объемах, указанных в таблице:

Наименование	Объем, мкл	
	25-30 ⁰ С	37 ⁰ С
Рабочий реагент	1000	1000
Сыворотка или плазма крови	40	20

7.4. Пробы перемешать и инкубировать при выбранной температуре в течение 1 минуты.

Примечания. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сывортки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:25 при 25-30⁰С и 1 : 50 при 37⁰С).

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_0) при выбранной температуре, при длине волны 340 нм против дистиллированной воды или воздуха.

8.2. Повторить измерения оптической плотности пробы не менее 3 раз с интервалом 0,5 минуты (D_1 , D_2 и D_3).

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать среднее изменение оптической плотности пробы в минуту (ΔD):

$$\Delta D = [(D_0 - D_1) + (D_1 - D_2) + (D_2 - D_3)] / (3 * t),$$

где t — интервал времени (мин).

9.2. Активность лактатдегидрогеназы в сыворотке или плазме крови А (Е/л) определить по формуле:

$$A = F \times \Delta D$$

где F – фактор пересчета для выражения активности лактатдегидрогеназы в Е/л, равный:

при 25-30 °C – 3612;

при 37°C – 7107

9.3. Если вычисленное значение ΔD превышает величину 0,35 ед. опт. плотн./мин, развести исследуемый образец физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ, а результат определения умножить на 10.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ЛДГ-UTS» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора 18 месяцев.

10.3. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2–8 °С в плотно закрытых флаконах в темном месте в течение всего срока годности набора.

10.4. Рабочий реагент можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре 2–8 °С не более 15 суток или при комнатной температуре (18–25 °С) не более 5 суток.

10.5. Оптическая плотность рабочего реагента при 340 нм должна составлять 1,7±2,0 ед. опт. плотн. (при использовании кювет с длиной оптического пути 10 мм).

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

По вопросам, касающимся качества набора «ЛДГ – UTS» следует обращаться в ЗАО «А/О ЮНИМЕД» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31.

Факс: (495) 564-86-41;

E-mail: office@unimedao.ru; <http://www.unimedao.ru>

Руководитель отдела производства реагентов

ООО «ЭЙЛИТОН»

к.б.н. Нечаев В.Н.

«23» августа 2010 г.

«СОГЛАСОВАНО»

зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики

ГОУ ДПО «РМАПО Росздравнадзора»

д.м.н., профессор Долгов В.В.

«З» августа 2010 г.

