

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
От _____ 201__ г.
№ _____

УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ООО «НПФ АБРИС+»
В.М. Марковский
« 18 » _____ 2010 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации пировиноградной
кислоты в крови энзиматическим UV-методом
(«ПИРУВАТ UV-АБРИС+»)

1. Назначение

Набор предназначен для количественного определения концентрации пировиноградной кислоты в крови энзиматическим UV-методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 50 определений при конечном объеме пробы 1,8 мл.

2. Характеристика набора.

2.1. Принцип метода

Пировиноградная кислота + НАДН + H⁺ — лактатдегидрогеназа —>
L- молочная кислота + НАД⁺;

2.2. Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- Депротеинизатор [HClO₄ – 0,5 моль/л] - готов к применению, 1 флакон, 50 мл;
- Good's буфер [CAPSO - 600 ммоль/л, pH 9,0] - готов к применению, 1 флакон, 50 мл;

Инструкция составлена директором по науке ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н. Ю.Г.Поповым и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

- НАДН [180 мкмоль/л] - готов к применению, 1 флакон, 10 мл;
- ЛДГ [> 3000 МЕ/л] - готов к применению, 1 флакон, 1,0 мл;
- Калибратор 50 мкмоль/л [Пируват натрия, 50 мкмоль/л, CAPSO - 20 ммоль/л] - готов к применению, 1 флакон, 20 мл;
- Калибратор «0» [CAPSO - 20 ммоль/л] - готов к применению, 1 флакон, 20 мл.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора.

3.1. Линейность

Линейная область определения концентрации пирувата в диапазоне от 10 до 650 мкмоль/л, отклонение от линейности не более 5%.

3.2. Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

3.3. Нормальные величины

венозная кровь натощак – 41–67 мкмоль/л.

4. Диагностическое значение

Непосредственными причинами повышения концентрации пирувата в крови являются:

- тяжелая сердечная недостаточность (НК II–III стадии).
- инсулинозависимый сахарный диабет, особенно диабетический кетоацидоз.
- тяжелые заболевания печени с нарушением ее функции.
- уремия.
- гиповитаминоз В₁ (бери-бери).

5. Меры предосторожности

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

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.

При работе с биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологических жидкостей человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать возбудителей различных инфекций.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

6. Оборудование, материалы и реагенты

- спектрофотометр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- секундомер;

- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с фиксированным или переменным объемом со сменными наконечниками;
- перчатки хирургические резиновые или пластиковые.

7. Анализируемые пробы

Венозная кровь, натощак. Во избежание получения недостоверных результатов депротенинизация исследуемого образца должна быть проведена сразу после забора крови из вены.

8. Проведение анализа

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ К АНАЛИЗУ:

ОХЛАДИТЬ ДЕПРОТЕИНИЗАТОР ДО ТЕМПЕРАТУРЫ $2-8^\circ\text{C}$

Внести в центрифужную пробирку	Опытная проба	Калибратор	Холостая проба
Депротенизатор, мл	1,0	1,0	1,0
Венозная кровь, мл	1,0	---	---
Калибратор, мл	---	1,0	---
Калибратор «0», мл	---	---	1,0

Немедленно интенсивно перемешать и центрифугировать 10 минут при 3000 об/мин. По окончании центрифугирования сразу отделить прозрачный супернатант от осадка. Полученный супернатант можно хранить при температуре $2-8^\circ\text{C}$ в течение 24 часов.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА:

$\lambda = 340 \text{ нм.}$

$d = 1 \text{ см.}$

Температура измерения 37°C .

Измерение против воздуха.

Внести в кювету	
Супернатант	0,6 мл
Good's буфер, мл	1,0 мл
Смешать	
Добавить	
НАДН	0,2 мл
Смешать и измерить A1.	
Добавить	
ЛДГ	0,02 мл
Смешать и инкубировать 5 минут при температуре 37°C .	
По окончании инкубации измерить A2. Рассчитать $\Delta A = A1 - A2$.	

РАСЧЕТ:

$$\text{мкмоль/л} = C \times \frac{\Delta A_{\text{опытной пробы}} - \Delta A_{\text{холостой пробы}}}{\Delta A_{\text{калибратора}} - \Delta A_{\text{холостой пробы}}},$$

где C – концентрация пировиноградной кислоты в калибраторе.

9. Условия хранения и эксплуатации набора

Срок годности набора - 12 месяцев.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в темном месте при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.

Для проведения процедуры анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пилетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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

Для контроля качества набора «ПИРУВАТ UV-АБРИС+» рекомендуется использовать набор контрольных лабораторных растворов пирувата производства ООО «НПФ АБРИС+» «Набор калибраторов пирувата», кат. № 431.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в ООО «НПФ АБРИС+» по адресу: 196135, Россия, Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, Россия, С.Петербург, пр. Гагарина, 65 ; тел./факс:(812) 727-24-40, 727-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>.

Д.м.н., профессор

А.В.Козлов

Директор по науке
ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н.

Ю.Г.Попов

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Минздравсоцразвития»
д.м.н., профессор

В.В. Долгов



В.В. Долгов

депутат

