

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОН-ДС»



Корзун Т.Ю.

09 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

Набор реагентов для определения общей активности лактатдегидрогеназы кинетическим методом в сыворотке крови (ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДДС)

по ТУ 21.20.23.110-011-48813770-2016

НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

«Набор реагентов для определения общей активности лактатдегидрогеназы кинетическим методом в сыворотке крови (ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДДС)», по ТУ 21.20.23.110-011-48813770-2016 предназначен для количественного определения общей активности лактатдегидрогеназы кинетическим методом в сыворотке крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор реагентов (ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДДС) должен использоваться квалифицированным персоналом в области клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Количество определений зависит от объема фасовки и используемого биохимического анализатора.

СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – это фермент, катализирующий превращение L-лактата в пируват с высвобождением энергии. Обратной реакцией начинается глюконеогенез из молочной кислоты (синтез глюкозы). ЛДГ присутствует в цитоплазме всех тканей человека, в высоких концентрациях в печени, сердечной и скелетных мышцах, в меньших концентрациях в эритроцитах, поджелудочной железе, почках и желудке. ЛДГ состоит из 4х субъединиц двух типов – М (muscle) и Н (heart). Различное сочетание субъединиц образует 5 изоферментов, причем ЛДГ₁ и ЛДГ₂ характеризуют повреждение сердечной мышцы, а ЛДГ₄ и ЛДГ₅ – скелетных мышц и печени.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ

Увеличение активности ЛДГ наблюдается при некрозе клеток печени любой этиологии; гепатите; холангите; жировой дистрофии печени; механической желтухе; опухоли печени; токсическом поражении печени; остром перерождении печени при беременности; ожоговой болезни; инфекционном мононуклеозе; гемолитических болезнях; обширных травмах скелетных мышц; миокардите; дерматомиозите; миопатии; инфаркт миокарда.

Высоким фермент также бывает при интенсивных физических нагрузках, чрезмерном употреблении кофеинсодержащих напитков и некоторых видов лекарств. ЛДГ повышен у женщин во время беременности, а также у новорожденных детей.

Увеличение активности ЛДГ обнаруживается при различных патологических состояниях, однако, для дифференциальной диагностики, из-за отсутствия органоспецифичности ЛДГ, необходимо определение её изоферментов, либо других ферментов, таких как щелочная фосфатаза или АЛТ/АСТ.

Набор реагентов (ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДДС) относится к вспомогательным средствам диагностики, клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, необходима консультация квалифицированного специалиста.

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов (ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДДС) может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку для диагностики инфаркта миокарда и заболеваний печени; дифференциальной диагностики заболеваний сердца и гепатобилиарной системы; мониторинга химиотерапии. ЛДГ – маркер злокачественных опухолей и дополнительный диагностический признак при заболеваниях мышц, гемолизе.

Показания для сдачи анализа на ЛДГ: гемолитическая анемия; патологические процессы в печени; эмболия легких; онкозаболевания; инфаркт миокарда; заболевания органов сердечно-сосудистой системы; алкогольный делирий; сбой в работе почек; гипотиреоз; судороги; дистрофия мышц; ожоги с большой площадью поражения; гипотермия; дерматологические заболевания; инфекционный мононуклеоз.

Набор реагентов (ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДДС) предназначен только для однократного применения по назначению.

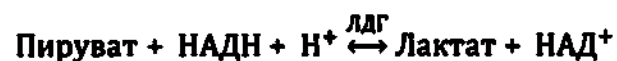
Противопоказаний не имеет.

МЕТОД

Оптимизированный УФ тест в соответствии с рекомендациями DGKC (Германского Общества Клинической Химии).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Лактатдегидрогеназа катализирует реакцию образования лактата из пирувата с одновременным окислением НАДН. Количество образовавшегося НАД можно измерить фотометрически при длине волны 340 нм. Снижение оптической плотности в процессе реакции прямо пропорционально активности лактатдегидрогеназы.



СОСТАВ НАБОРА

Варианты исполнения:

1. Вариант 1:

- | | | | |
|------|------------|--|---------------|
| 1.1. | Реагент 1: | буферно-субстратный раствор, pH 7,5, содержащий пируват натрия | ≥ 0,6 ммоль/л |
| | | азид натрия | 0,095% |
| 1.2. | Реагент 2: | буферный раствор, pH 9,6, содержащий НАДН | ≥ 1,0 ммоль/л |
| | | азид натрия | 0,095% |

в следующих комплектациях:

- 1) Реагент 1: 1 флакон (20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (5,0 мл).
- 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл).

- 3) Реагент 1: 5 флаконов (по 80 мл);
Реагент 2: 1 флакон (100 мл).
- 4) Реагент 1: 2 флакона (по 68 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 17 мл).
- 5) Реагент 1: 6 флаконов (по 68 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 17 мл).
- 6) Реагент 1: 2 флакона (по 64 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 7) Реагент 1: 6 флаконов (по 64 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 8) Реагент 1: 2 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 9) Реагент 1: 6 флаконов (по 65 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 10) Реагент 1: 4 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 20 мл).
- 11) Реагент 1: 4 флакона (по 38 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 22 мл).
- 12) Реагент 1: 6 флаконов (по 24 мл);
Реагент 2: 3 флакона (по 13 мл).
- 13) Реагент 1: 6 флаконов (по 16 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 4,0 мл).
- 14) Реагент 1: 4 флакона (по 62 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 18 мл).
- 15) Реагент 1: 6 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 5,0 мл).
- 16) Реагент 1: 12 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 30 мл).
- 17) Реагент 1: 4 флакона (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 18) Реагент 1: 6 флаконов (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 32 мл).
- 19) Реагент 1: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (20 мл).
- 20) Реагент 1: 4 флакона (по 90 мл);
Реагент 2: 1 флакон (90 мл).
- 21) Реагент 1: 4 флакона (по 60 мл);
Реагент 2: 1 флакон (60 мл).
- 22) Реагент 1: 4 флакона (по 35 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 23) Реагент 1: 4 флакона (по 44 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 24) Реагент 1: 4 флакона (по 15 мл);
Реагент 2: 1 флакон (15 мл).
- 25) Реагент 1: 6 флаконов (по 33 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 12 мл).
- 26) Реагент 1: 1 канистра (10000 мл);
Реагент 2: 1 канистра (2500 мл).
- 27) Реагент 1: 4 флакона (по 17 мл);
Реагент 2: 1 флакон (18 мл).
- 28) Реагент 1: 4 флакона (по 31 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 16 мл).

2. Вариант 2:

2.1. Реагент 1: буферно-субстратный раствор, pH 7,5, содержащий
пируват натрия $\geq 0,6$ ммоль/л
азид натрия 0,095%

2.2. Реагент 2: буферный раствор, pH 9,6, содержащий
НАДН $\geq 1,0$ ммоль/л
азид натрия 0,095%

2.3. Идентификационная метка

в следующих комплектациях:

1) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл);
Идентификационная метка: 1 штука.

2) Реагент 1: 5 флаконов (по 80 мл);
Реагент 2: 1 флакон (100 мл);
Идентификационная метка: 1 штука.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Линейность в диапазоне от 40 до 1200 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 40 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 4%.

При активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови более 1200 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту $\Delta E/\text{мин}$ не должно превышать 0,15) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором (0,9% NaCl) в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов рекомендуем проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) (метод DGKC) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (метод DGKC) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных сывороток, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемым.

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U (метод DGKC) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Концентрация ЛДГ в TruCal U прослеживается до коэффициента молярной экстинкции в соответствии с оригинальной процедурой DGKC.

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании нового набора.

РЕФЕРЕНСНЫЕ/НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В сыворотке крови по W. Heil, V. Ehrhardt, 2008:

Возраст	ЛДГ, Е/л
Дети:	
новорожденные	до 1732
до 6 мес.	до 975
до 12 мес.	до 1100

1-3 года	до 850
3-6 лет	до 615
6-12 лет (муж)	до 764
6-12 лет (жен)	до 580
13-17 (муж)	до 683
13-17 (жен)	до 436
Взрослые:	до 480

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

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка (без гемолиза). Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови. Образцы сыворотки должны быть отделены от форменных элементов крови центрифугированием не позднее, чем через 1 ч после забора. *Гемолиз должен быть полностью исключен, так как уровень ЛДГ в эритроцитах в 100 раз выше, чем в сыворотке!*

Стабильность:

4 дня	при 15-25°C
6 недель	при 2-8°C

Образцы не замораживать!

Хранить в темноте!

Загрязненные образцы хранению не подлежат!

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

В реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними соблюдайте осторожность и не допускайте попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рвоту. При необходимости обратитесь к врачу.

Все компоненты набора, в используемых концентрациях для *in vitro* диагностики, являются нетоксичными.

На маркировку реагента 1 и реагента 2, коробки с набором наносится графический символ  - *Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению* (по ГОСТ Р ИСО 15223-1).

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» (Москва, 1981 г.).

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

Соблюдайте требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Биохимический анализатор, поддерживающий длину волны 340 нм;

- спектрофотометр, поддерживающий длину волны 340 нм, с длиной оптического пути 1 см;
- термостат водяной;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 10 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (допустимая погрешность не более 3%);
- мультикалибратор TruCal U «DiaSys Diagnostic Systems GmbH»;
- посуда стеклянная мерная лабораторная;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.

Для приготовления рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Для стабилизации компонентов раствора, рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20-30 мин при комнатной температуре (15-25°C). Рабочий реагент хранить при температуре 2-8°C в течение 2 недель или при комнатной температуре (15-25°C) в течение 2 суток, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время).

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовить согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

При наличии системы идентификации набора реагентов активировать анализатор с помощью Идентификационной метки способом, предусмотренным производителем анализатора.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблицах.

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Мультикалибратор	–	10	–
Образец	–	–	10
Реагент 1	–	1000	1000
Перемешать, инкубировать примерно 1-5 мин при 37°C, затем добавить:			
Реагент 2	–	250	250
Перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм, при 37°C, относительно холостой пробы в кюветах с длиной оптического пути 1 см.			

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.

Перед проведением анализа рабочий реагент следует прогреть при температуре $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в

течение 5 мин.

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Мультикалибратор	—	10	—
Образец	—	—	10
Рабочий реагент	—	1000	1000

Пробы тщательно перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм, при 37°C, относительно холостой пробы в кюветках с длиной оптического пути 1 см.

Вычислить среднее значение $\Delta A/\text{мин}$ образца/мультикалибратора

Примечание: Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение образца к рабочему реагенту составляет 1:100).

РАСЧЕТЫ

По мультикалибратору:

$$\text{Активность ЛДГ [Е/л]} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}} \times \text{Активность ЛДГ в мультикалибраторе [Е/л]},$$

где: $\Delta A/\text{мин}_{\text{оп}}$ – изменение оптической плотности в минуту опытной пробы, ед.опт.пл.;

$\Delta A/\text{мин}_{\text{кал}}$ – изменение оптической плотности в минуту калибровочной пробы, ед.опт.пл.

По фактору (указан в паспорте к набору):

Определение активности ЛДГ можно проводить по фактору, который указывается в паспорте к набору (фактор зависит от типа используемого анализатора). Рекомендуем уточнять значение фактора по мультикалибратору TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия), аттестованному по активности ЛДГ в соответствии с методом DGKC opt. 1970 37°C.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ (СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ)

Аскорбиновая кислота до 300 мкг/мл (30 мг/дл), билирубин до 684 мкмоль/л (40 мг/дл) и липемия до 22,52 ммоль/л (2000 мг/дл) триглицеридов не влияют на точность анализа. Гемолиз влияет сильно, так как уровень ЛДГ в эритроцитах в 100 раз выше, чем в сыворотке. Дополнительных веществ (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

Срок годности Идентификационной метки – ограничен моментом активации анализатора.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2-8°C в течение 2 недель или при комнатной температуре (15-25°C) в течение 2 суток, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор (ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДДС) не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала, при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Изделие, пришедшее в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации.

Утилизацию или уничтожение Набора реагентов, неиспользованных реактивов, дезинфекцию следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» для Класа «Б» медицинских отходов и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

АО «ДИАКОН-ДС» гарантирует качество, эффективность и безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании набора реагентов по назначению в условиях, предусмотренных данной инструкцией по применению.

Гарантийные обязательства АО «ДИАКОН-ДС» распространяются с даты изготовления и на период срока годности медицинского изделия, при условии надлежащего транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДДС, следует обращаться в АО «ДИАКОН-ДС» по адресу: 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Грузовая, д. 1а; тел. (495) 980-63-38, т/факс (495) 980-66-79.

РУ № ФСР 2007/01434

Инструкция утверждена 09 СЕН 2020.

Начальник Отдела Исследований и Разработок
АО «ДИАКОН-ДС», к.б.н.

О.Ю. Гудкова

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ



03 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Барнавичус П.К.

