



Версия 1-2021

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

А.Г. Плехов

« 1 » июня 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

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

**«ЛДГ-ВИТАЛ»,
ТУ 21.20.23-113-94568735-2021**

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения активности лактатдегидрогеназы в сыворотке (плазме) крови оптимизированным кинетическим методом «ЛДГ-ВИТАЛ» (далее по тексту - набор) предназначен для количественного определения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке (плазме) крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор 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 активности ЛДГ в сыворотке (плазме) крови с целью диагностики и мониторинга терапии сердечно-сосудистых заболеваний, прежде всего - острого инфаркта миокарда, а также болезней скелетной мускулатуры и печени.

1.3. Набор может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Целевой анализ. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент класса оксидоредуктаз, катализирует обратимую реакцию превращения пировиноградной кислоты в молочную (лактат) в процессе синтеза и распада глюкозы в анаэробных условиях; участвует в углеводном обмене и энергоснабжении клетки. Содержится почти во всех тканях человеческого организма, наибольшая активность отмечается в клетках миокарда, скелетных мышц, печени, почек, в эритроцитах; фермент присутствует также в лимфоцитах, в тканях легких. ЛДГ существует в пяти молекулярных формах, в миокарде и почках содержится, в основном, изофермент ЛДГ-1, в печени и скелетных мышцах – ЛДГ-5.

Активность ЛДГ в крови повышается при сердечно-сосудистых заболеваниях (острый инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, миокардиты); заболеваниях скелетной мускулатуры (миопатии); при болезнях печени (вирусные гепатиты, токсические поражения печени); легочных заболеваниях (при сердечной астме).

1.5. Набор выпускается в двух формах – жидкой (комплекты 1-14) и лиофилизированной (комплект 15).

Варианты 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 50 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 15 мл).

Комплект 8:

- реагент 1 – 4 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 15 мл).

Комплект 9:

- реагент 1 – 1 флакон (72 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (20 мл).

Комплект 10:

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

Комплект 11:

- реагент 1 – 3 флакона (по 72 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 20 мл).

Комплект 12:

- реагент 1 – 4 флакона (по 35 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 18 мл).

Комплект 13:

- реагент 1 – 6 флаконов (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 32 мл).

Комплект 14:

- реагент 1 – 9 флаконов (по 40 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 32 мл).

Комплект 15:

- реагент 1 – 1 флакон (50 мл),
- реагент 2 – 5 флаконов.

Варианты исполнения рассчитаны* на:

- Комплект 1 – 100 определений,
- Комплект 2 – 200 определений,
- Комплект 3 – 310 определений,
- Комплект 4 – 620 определений,
- Комплект 5 – 304 определения,

Комплект 6 – 608 определений,
Комплект 7 – 560 определений,
Комплект 8 – 1120 определений,
Комплект 9 – 420 определений,
Комплект 10 – 840 определений,
Комплект 11 – 1260 определений,
Комплект 12 – 540 определений,
Комплект 13 – 720 определений,
Комплект 14 – 1080 определений,
Комплект 15 – 100 определений.

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

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ

Кинетическое спектрофотометрическое определение активности ЛДГ основано на регистрации уменьшения оптической плотности анализируемого образца при длине волны 340 нм в результате реакции, в которой пируват превращается в лактат с одновременным окислением β -NADH.

Скорость окисления β -NADH в β -NAD⁺ пропорциональна активности ЛДГ в пробе.

3. СОСТАВ

Состав набора в жидкой форме (комплекты 1-14).

- реагент 1 – натрий фосфорнокислый двузамещенный, 50 ммоль/л; натрия пируват, 0,8 ммоль/л; натрия азид, 0,05%, 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 50 мл),
- комплект 8 - 4 флакона (по 50 мл),
- комплект 9 - 1 флакон (72 мл),
- комплект 10 - 2 флакона (по 72 мл),
- комплект 11 - 3 флакона (по 72 мл),
- комплект 12 - 4 флакона (по 35 мл),
- комплект 13 - 6 флаконов (по 40 мл),
- комплект 14 - 9 флаконов (по 40 мл).

- реагент 2 – β -никотинамидадениндинуклеотид восстановленный (β -NADH), 0,18 ммоль/л; натрия азид, 0,05%, готов к использованию:

- комплект 1 - 1 флакон (10 мл),
- комплект 2 - 2 флакона (по 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 - 4 флакона (по 15 мл),
- комплект 9 - 1 флакон (20 мл),
- комплект 10 - 2 флакона (по 20 мл),
- комплект 11 - 3 флакона (по 20 мл),

- комплект 12 - 2 флакона (по 18 мл),
- комплект 13 - 2 флакона (по 32 мл),
- комплект 14 - 3 флакона (по 32 мл).

Состав набора в лиофилизированной форме (комплект 15).

- реагент 1 – буфер: натрий фосфорнокислый двузамещенный, 50 ммоль/л; натрия пируват, 0,6 ммоль/л; натрия азид, 0,05%, готов к использованию;
- комплект 15 - 1 флакон (50 мл).
- реагент 2 – лиофилизированная смесь, конечная концентрация компонентов после растворения: β -никотинамидадениндинуклеотид восстановленный (β -NADH), 0,18 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин, 0,8 г/л; натрия азид, 0,05%;
- комплект 15 - 5 флаконов.

Примечание:

1. Материалы животного происхождения, входящие в состав реагентов, не представляют опасности для человека, материалов человеческого происхождения не содержится.
2. При постановке анализа могут быть использованы многокомпонентные калибраторы, аттестованные данным методом и зарегистрированные в установленном порядке.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения – в диапазоне 200-1200 Е/л.

Чувствительность – 100 Е/л.

Коэффициент вариации – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора: такие потенциально интерферирующие вещества, как билирубин до концентрации 1311 мкмоль/л, триглицериды до концентрации 12 ммоль/л, аскорбиновая кислота до концентрации 20 мг/дл, общий белок до концентрации 100 г/л и гемоглобин до концентрации 0,077 г/л не влияют на правильность определения активности ЛДГ.

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

Нормальные величины активности ЛДГ в сыворотке (плазме) крови при температуре измерения +37°C у взрослых составляют 225-450 Е/л.

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

Аналитические характеристики набора установлены в соответствии с 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 можно хранить не более 2 суток при температуре +2-8°C или не более 1 месяца при температуре -18°C. Повторное замораживание образцов не допускается. Пробирки с образцами следует плотно закрывать.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2a.

Реагенты 1 и 2 содержат токсичное вещество – натрия азид. При работе с набором следует соблюдать осторожность и не допускать попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые. При попадании в глаза, на кожу и слизистые следует немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л воды, вызвать рвоту, обратиться к врачу.

При работе с набором следует соблюдать 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 с термостатируемой кюветой с длиной оптического пути 10 мм, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения кинетического измерения при длине волны 340 (334, 365) нм и температуре инкубации +37°C;
- термостат, обеспечивающий температуру +37±1°C;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- пробирки вместимостью 1-2 мл;
- колба вместимостью 50 мл;
- дистиллированная вода;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

Примечание. Использование набора на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Подготовка к анализу реагентов 1 и 2 набора в жидкой форме (комплекты 1-14)

- **монореагентный метод:**

Приготовление рабочего реагента: внести в колбу вместимостью 50 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1 и перемешать.

- **биреагентный метод:**

Реагенты 1, 2 готовы к использованию.

Подготовка к анализу реагентов 1 и 2 набора в лиофилизированной форме (комплект 15)

Приготовление рабочего реагента: содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в 10 мл реагента 1, после полного растворения лиофилизата выдержать в течение 5-10 минут при температуре +18-25°C, аккуратно перемешать.

Непосредственно перед использованием реагенты нагреть до температуры +37°C.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 340 (334, 365) нм;

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +37°C;

Фотометрирование: против воды или рабочего реагента.

Проведение анализа монореагентным методом:

В термостатируемую (+37°C) кювету спектрофотометра внести 0,5 мл рабочего реагента, добавить 0,005 мл анализируемой сыворотки (плазмы) крови, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 1 минуту (точно!), измерить оптическую плотность (Е). Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Проведение анализа биреагентным методом:

В термостатируемую (+37°C) кювету спектрофотометра внести 0,4 мл реагента 1, добавить 0,005 мл анализируемой сыворотки (плазмы) крови, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 1 минуту, добавить 0,1 мл реагента 2, пробу

тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту (точно!), измерить оптическую плотность (Е). Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Примечания.

Расход реагентов и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы.

10. РАСЧЕТЫ

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

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

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

t – интервал времени между определениями, мин.

Активность ЛДГ (А) в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови определить по формуле:

$$A = \Delta E / \text{мин} \times F,$$

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

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

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

Если значение активности ЛДГ в анализируемой пробе превышает 1200 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя и его транспортирование всеми видами крытого транспорта допускается при температуре +2-8°C в течение всего срока годности, при температуре до +25°C – не более 5 суток, замораживание компонентов набора не допускается.

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

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагенты 1 и 2 набора в жидкой форме (комплекты 1-14) после вскрытия флаконов можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 6 месяцев.

Реагент 1 набора в лиофилизированной форме (комплект 15) после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности.

Реагент 2 набора в лиофилизированной форме (комплект 15) необходимо использовать для приготовления рабочего реагента в течение 10 минут после вскрытия флакона. Время полного растворения реагента 2 – не более 2 минут.

Рабочий реагент набора в жидкой форме (комплекты 1-14) можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 10 дней.

Рабочий реагент набора в лиофилизированной форме (комплект 15) можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 1 суток.

Оптическая плотность рабочего реагента, измеренная при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм, должна находиться в пределах 0,8-2,0 ед. оп. плотн.

Реагенты 1, 2 набора в жидкой форме (комплекты 1-14) можно хранить на борту анализатора не более 1 месяца при условии круглосуточного охлаждения.

Рабочий реагент набора в жидкой (комплекты 1-14) и лиофилизированной форме (комплект 15) можно хранить на борту анализатора не более 1 суток при условии круглосуточного охлаждения.

Необходимо обеспечивать достаточную герметичность флаконов!

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

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 набора после истечения срока годности. Техническое обслуживание и ремонт медицинского изделия для диагностики *in vitro* не применяются.

Производитель произвел верификацию, валидацию и оценку стабильности набора в соответствии с ГОСТ Р ИСО 23640-2015. Результаты исследований, отраженные в соответствующих протоколах, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

Оценка рисков, связанных с возможным изменением параметров проведения анализа (изменение температуры и времени инкубации), проводилась в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор 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, 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, 8(800) 200-23-24

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



А.Г. Плехов

П.К. Варнавичус

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 7 листа(ов)

Ген. директор

Плехов А.Г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

« » 2021 год

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