

КОПИЯ ВЕРНА



УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения и
социального обеспечения

Г.И. Абрамкин
"15" _____ 2004 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения общей активности
лактатдегидрогеназы в сыворотке (плазме) крови
(ЛДГ-ОЛЬВЕКС)

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по лабораторным
реагентам. (протокол № 2 от 29 марта 2004 г.)

Назначение

Набор предназначен для количественного определения общей активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке или плазме крови человека кинетическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 50 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Инструкция составлена директором по науке ООО «Ольвекс Диагностикум», к.б.н. З.А.Тупиковой и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПб МАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Принцип метода

Метод основан на способности ЛДГ катализировать реакцию образования лактата из пирувата с одновременным окислением НАДН. Скорость образования НАД, сопровождающаяся уменьшением оптической плотности анализируемого образца, прямо пропорциональна активности ЛДГ и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буферный раствор), pH 7,5, содержащий натрия пируват, 0,6 ммоль/л; натрия фосфат, 0,05 моль/л; натрия азид, 1,5 ммоль/л; натрия гидроокись, 0,05 моль/л - 1 флакон (50 мл);
- реагент 2 (лиофилизат), содержащий НАДН, 0,845 ммоль/л; трис(гидроксиметил)-аминометан, 0,01 моль/л; бычий сывороточный альбумин (БСА), 15 г/л; натрия азид, 1,5 ммоль/л - 10 флаконов.

Аналитические характеристики

Набор обеспечивает линейную область определения активности ЛДГ в диапазоне от 100 до 1200 Е/л, отклонение от линейности - не более 5%.

Чувствительность - не более 80 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины активности ЛДГ в сыворотке (плазме) крови – 225-450 Е/л.

Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови человека.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят азид натрия и натрия гидроокись. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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

При работе с набором следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки или плазмы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 1,0 см; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл; 0,02 мл; 1,0 мл и 5,0 мл;
- 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

Приготовление рабочего реагента

Перед проведением анализа растворить содержимое 1 флакона реагента 2 в 5,0 мл реагента 1.

Рабочий реагент готов к применению не ранее, чем через 10 минут после растворения при комнатной температуре (+18-25°C).

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C не более 24 часов или при комнатной температуре не более 3 часов.

Тщательно закрывать флакон непосредственно после каждого использования реагента.

Проведение анализа

В термостатируемую кювету фотометра (температура +37°C) внести 1,0 мл рабочего реагента, добавить 0,01 мл сыворотки или плазмы крови, перемешать, включить секундомер. Через 1 минуту измерить оптическую плотность пробы против воздуха при длине волны 340 нм. Измерение оптической плотности повторить три раза с интервалом в 1 минуту. Общее время реакции не должно превышать 5 минут.

Расчеты

Определить среднее арифметическое значение изменения оптической плотности опытной пробы за 1 минуту по данным трех измерений ($\Delta \bar{E}/\text{мин}$).

Расчет активности ЛДГ провести по формуле:

$$A = \Delta \bar{E}/\text{мин} \times 16030,$$

где: A - активность лактатдегидрогеназы, Е/л;

$\Delta \bar{E}/\text{мин}$ - среднее арифметическое значение изменений оптической плотности пробы за 1 минуту;

16030 - фактор пересчета для выражения активности ЛДГ в Е/л.

Примечание. 1 Е/л = 16,67 нмоль/л/(с × л).

Условия хранения и эксплуатации набора

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

Срок годности набора - 12 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C не более 24 часов или при комнатной температуре (+18-25°C) не более 3 часов.

Реагент 1 после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 3 месяцев.

Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

В том случае, когда активность ЛДГ превышает 1200 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

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

По вопросам, касающимся качества набора ЛДГ-ОЛЬВЕКС, следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02;

Факс: (812) 567-84-29

и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» ФС НЗСР по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум»



З.А.Тупикова

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики СПбМАПО,
д.м.н., профессор



А.В.Козлов

