

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2013 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО "Ольвекс Диагностикум"



О.В. Толстова

" 14/11/2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения общей активности
лактатдегидрогеназы в сыворотке и плазме крови
(ЛДГ-2-ОЛЬВЕКС)

Назначение

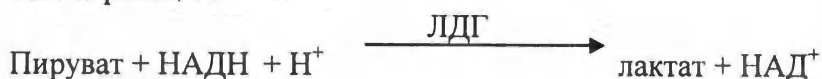
Набор «ЛДГ-2-ОЛЬВЕКС» предназначен для количественного определения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке и плазме крови человека оптимизированным кинетическим методом в клинической лабораторной диагностике.

Количество определений зависит от характеристик используемого анализатора и минимального рабочего объема кюветы. Согласно стандартной процедуре анализа набор рассчитан на проведение 50 или 100 определений.

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.

Схема реакции:



Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буферный раствор), содержащий фосфорную кислоту, 50 ммоль/л; гидроокись натрия 4 N, 80 ммоль/л; пируват натрия, 0,75 ммоль/л; азид натрия, 0,5 г/л; гидроокись натрия до pH 7,15; готов к применению - 1 флакон (40 мл) или 2 флакона (по 40 мл);

- реагент 2 (стартовый реагент), содержащий трис(гидроксиметил)-аминометан, 50 ммоль/л; НАДН динатриевая соль, 0,9 ммоль/л; азид натрия, 0,9 г/л; гидроокись натрия до pH 10,18; готов к применению - 1 флакон (10 мл) или 2 флакона (по 10 мл).

Аналитические характеристики

Набор обеспечивает линейную область определения активности ЛДГ в диапазоне от 60 до 1200 Е/л, отклонение от линейности - не более 5%.

Чувствительность - не более 40 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.

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

Анализируемые образцы

Свежая сыворотка или плазма крови без следов гемолиза.

Активность фермента в сыворотке снижается после 3 дней хранения при +2-8°C - на 8%, при комнатной температуре (+18-25°C) - на 2%.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят токсичные компоненты – азид натрия и гидроокись натрия. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании

немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует немедленно 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;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1$ °C;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл и 1,0 мл;
- 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор);
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0-10 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

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

Приготовление рабочего реагента

Перед проведением анализа смешать требуемое количество реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1.

Рабочий реагент стабилен при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не менее 24 часов или при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) не менее 8 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 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 - 18 месяцев.

Рабочий реагент стабилен в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе при температуре +2-8°C не менее 24 часов или при комнатной температуре (+18-25°C) не менее 8 часов.

Реагент 1 и реагент 2 стабильны в защищенном от света месте при температуре +2-8°C.

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-2-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

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

Тел: (812) 412-84-46, (812) 412-83-02;

Факс: (812) 412-84-29

Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум»



Юшин К.В.

«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГБОУ ДПО
РМАПО Минздрава России
д.м.н., профессор



Долгов В.В.

1

Пронумеровано и прошнуровано
в количестве *5 штук*
Генеральный директор

