

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

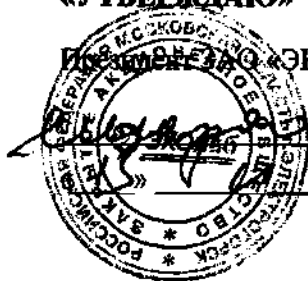
от _____ 2008 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Подпись: _____ «ЭКОлаб»

С. Г. Марданлы

2008 г.



**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АКТИВНОСТИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В
СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ**

(«ЛДГ-кинетика»)

1. Назначение

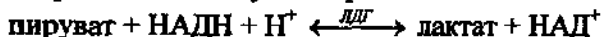
Набор предназначен для количественного определения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке и плазме крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор предназначен для проведения 80 определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на один анализ.

2. Характеристика

2.1. Принцип действия

Кинетическое спектрофотометрическое определение активности ЛДГ основано на регистрации уменьшения оптической плотности опытного образца при 340 нм в результате протекания следующей реакции:



Скорость окисления НАДН пропорциональна активности ЛДГ.

2.2. Состав набора

- Реагент 1 - субстратно-буферный раствор (трис (гидроксиметил) аминометан, 0,05 моль/л; этилендиаминететрауксусной кислоты динатриевая соль (трилон-Б), 5,0 ммоль/л; натрия азид, 15,4 ммоль/л; натрий пировинограднокислый, 1,6 ммоль/л; натрий хлористый, 0,2 моль/л), pH 7,4 - 4 флакона (по 20 мл).

- Реагент 2 - НАДН, 0,24 ммоль/л, лиофилизат - 4 флакона.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Линейность в диапазоне от 90 Е/л до 2000 Е/л; отклонение - не более 5 %.

Чувствительность - не более 70 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определения - не более 5 %.

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

Нормальные значения содержания лактатдегидрогеназы:

в сыворотке и плазме крови от 200 до 450 Е/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории определять диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора - класс 2а.

Реагент I содержит ядовитое вещество - натрия азид. При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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 СССР» (Москва, 1981 г.).

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

5. Оборудование, материалы и реагенты

- Фотометрическое оборудование, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- таймер;
- пипетки позволяющие отбирать объемы жидкости 1000 мкл и 10 мкл;
- вода дистиллированная;
- 0,9 % раствор натрия хлористого (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА плазма крови.

Сыворотку и плазму крови можно хранить при температуре (2-8) °C не более 1 сут.

7. Проведение анализа

7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов

К содержимому одного флакона с реагентом 2 добавить 5-7 мл реагента 1, перемешать круговыми движениями до полного растворения, не допуская пенообразования. Полученный раствор перенести во флакон с реагентом 1, перемешать.

Рабочий раствор реагентов можно хранить при температуре (2-8) °C в темном месте в плотно закрытом флаконе не более 10 сут.

7.2. Проведение анализа

Перед проведением анализа рабочий раствор реагентов довести до температуры (37 ± 1) °C.

Рабочий раствор реагентов и анализируемую пробу внести в кювету в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мкл	Опытная проба
Рабочий раствор реагентов	1000
Сыворотка (плазма) крови	10

Примечание. При использовании кюветы меньшего объема расход реагентов может быть уменьшен при сохранении указанных выше соотношений.

Перемешать и поместить в термостатируемое отделение при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Через 30 сек измерить оптическую плотность пробы ($E_{пр}$). Измерение оптической плотности повторить 3 раза с интервалом в 1 мин.

8. Регистрация результатов

Длина волны: 340 нм;

Длина оптического пути: 1,0 см;

Температура анализа: $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;

Измерение: относительно воздуха.

9. Учет результатов реакции

Рассчитать изменение оптической плотности в минуту (ΔE_i) для каждого определения по формуле (1):

$$\Delta E_1 = E_2 - E_1, \quad \Delta E_2 = E_3 - E_2, \quad \Delta E_3 = E_4 - E_3 \quad (1),$$

где E_1 - значение оптической плотности пробы после инкубации (задержка);

$E_{2,3,4}$ - значение оптической плотности пробы после 1, 2, 3 минуты реакции, соответственно

Рассчитать среднее арифметическое значение изменения оптической плотности в минуту ($\Delta \bar{E}_{пр} / \text{мин}$) для анализируемой пробы по формуле (2):

$$\Delta \bar{E}_{пр} / \text{мин} = \frac{\Delta E_1 + \Delta E_2 + \Delta E_3}{3} \quad (2),$$

где $\Delta E_1, \Delta E_2, \Delta E_3$ - изменения оптической плотности проб в первую, вторую и третью минуты реакции;

3 - количество минут, в течение которых проводилось измерение.

Рассчитать активность ЛДГ (А) по формуле (3):

$$A = \Delta E / \text{мин} \times 16030 \quad (3),$$

где А - активность ЛДГ, Е/л;

$\Delta E / \text{мин}$ - среднее изменение оптической плотности пробы в минуту, ед. опт. пл.;

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

Коэффициенты пересчета: $1 \text{ Е/л} = 16,67 \text{ нмоль/л} (с \times л)$; $1 \text{ Е/л} = 0,0167 \text{ мккат/л}$;
 $1 \text{ Е/л} = 0,06 \text{ ммоль/ч} \times л$

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности. Допускается хранение при температуре до $+25^\circ\text{C}$ не более 5 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора - 1 год.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в темном месте в плотно закрытых флаконах в течение всего срока годности.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в темном месте в плотно закрытых флаконах не более 10 сут.

При активности лактатдегидрогеназы выше 2000 Е/л ($\Delta E / \text{мин}$ более 0,130) пробу следует развести физиологическим раствором в 10 раз и полученный результат умножить на 10.

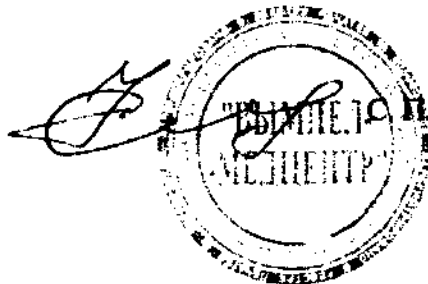
По вопросам, касающимся качества набора «ЛДГ-кинетика» следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО «ЭКОлаб»; тел/факс (49643) 3-30-93, 3-30-85 - отдел сбыта.

Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»



Т. М. Сиренко

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ЗАО «Вымпел-Медцентр»
кандидат мед. наук



Н. Кондрашов