УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____Е.Н.Схолль-Энгбертс

«____» _____2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

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

(ЛДГ – ВИТАЛ)

НАЗНАЧЕНИЕ

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

Набор выпускается в двух видах – лиофилизированном (вариант 1) и жидком (вариант 2) и рассчитан на проведение 50 определений (только вариант 1) или 50, 100, 180, 200, 240 и 300 определений (только вариант 2) при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Кинетическое спектрофотометрическое определение активности ЛДГ основано на регистрации уменьшения оптической плотности анализируемого образца в результате реакции, при которой пируват превращается в лактат с одновременным окислением NADH. Скорость уменьшения оптической плотности анализируемого образца, связанная с окислением NADH в NAD, прямо пропорциональна активности ЛДГ и регистрируется фотометрически при длине волны 340 нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

Вариант 1.

- реагент 1: буфер (натрия пируват, 0,6 ммоль/л; натрий фосфорнокислый однозамещенный, 50 ммоль/л) – 1 флакон (50 мл);
- реагент 2: лиофилизированная смесь (конечная концентрация в рабочем реагенте: NADH, 130 мг/л; бычий сывороточный альбумин, 0,08%) – 5 флаконов.

Вариант 2.

- реагент 1: буфер (натрия пируват, 0,6 ммоль/л; натрий фосфорнокислый однозамещенный, 50 ммоль/л) - 1 флакон (40 мл) или 2 флакона (по 40 мл или по 72 мл) или 4 флакона (по 40 мл или по 48 мл) или 6 флаконов (по 40 мл);
- реагент 2: (NADH, 0,18 ммоль/л; трис-HCl, 20 ммоль/л) - 1 флакон (10 мл) или 2 флакона (по 10 мл, по 18 мл, по 20 мл или по 32 мл) или 3 флакона (по 16 мл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения активности ЛДГ – в диапазоне от 200 до 1200 Е/л, отклонение от «линейности» - не более 5 %.

Чувствительность определения – не более 100 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определений – не более 5 %.

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

Нормальные величины активности ЛДГ в сыворотке или плазме составляют: 120-240 Е/л или 2-4 мккат/л (при температуре 25°С); 160-320 Е/л или 2,67-5,33 мккат/л (при температуре 30°С); 225-450 Е/л или 3,75-7,5 мккат/л (при температуре 37°С).

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

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка или плазма (гепаринизированная или ЭДТА) крови.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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 соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

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

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Б». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Б». Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- термостат, поддерживающий температуру +37±0,1°С;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл и 0,1 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- физиологический раствор (0,9% NaCl).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента

Для варианта 1: Содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в 10 мл реагента 1 и после полного растворения лиофилизата выдержать при комнатной температуре (+18-25°С) в течение 5-10 мин.

Полученный рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре +2-8°С не более 24 ч или при комнатной температуре не более 3 ч.

Для варианта 2: Смешать в колбе конической вместимостью 100 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°С не более 10 сут или при комнатной температуре не более 2 сут.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед началом определения кювету спектрофотометра и рабочий реагент нагреть до температуры +37°С в течение 5 мин и при измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру +37°С.

Внести в кювету спектрофотометра 1,0 мл рабочего реагента, добавить 0,01 мл анализируемой сыворотки или плазмы крови, перемешать, включить секундомер и точно через 1 мин измерить величину оптической плотности при длине волны 340 нм против воздуха. Повторить замер оптической плотности три раза с интервалом в 1 мин (точно!).

РАСЧЕТЫ

Рассчитать среднюю величину изменения оптической плотности за 1 мин (ΔЕ/мин).

Активность ЛДГ в сыворотке (плазме) крови определить по формуле:

$$A = \Delta E/\text{мин} \times F,$$

где: А – активность ЛДГ, Е/л или мккат/л;

ΔЕ/мин – изменение оптической плотности анализируемой пробы за 1 мин, ед.опт.плотн./мин;

F – фактор пересчета для получения активности в Е/л или в мккат/л (указывается в паспорте на набор).

Набор позволяет провести определение активности ЛДГ в сыворотке или плазме крови также при температуре +25 °С или + 30°С. При этом ход проведения анализа остается таким же, как это изложено выше; при измерении оптической плотности пробы необходимо постоянно поддерживать температуру проведения определения (+ 25°С или + 30°С).

При необходимости выражения полученной активности ЛДГ в Е/л при различных температурных условиях следует использовать температурные коэффициенты пересчета, приведенные в таблице.

Таблица

Температура Инкубации	+ 25 °С	+ 30 °С	+ 37°С
+ 25°С	1,00	1,29	1,92
+ 30 °С	0,78	1,00	1,49
+ 37 °С	0,52	0,67	1,00

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор реагентов для определения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке или плазме крови оптимизированным кинетическим методом (ЛДГ-ВИТАЛ) должен храниться при температуре +2-8°С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до + 25°С не более 5 сут.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8 °С. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25 °С не более 5 сут.

Срок годности набора, изготовленного по варианту 1 – 18 мес, изготовленного по варианту 2 – 12 мес.

Реагент 1 (по варианту 1) после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8°С в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флакона.

Рабочий реагент, приготовленный из реагентов по варианту 1, можно хранить при температуре +2-8°С не более 24 ч или при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 3 ч.

Реагенты 1 и 2 (по варианту 2) после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°С не более 6 месяцев при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент, приготовленный из реагентов по варианту 2, можно хранить в темном месте при температуре +2-8°С не более 10 сут или при комнатной температуре не более 2 сут.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

Если активность ЛДГ превышает 1200 Е/л, исследуемый образец сыворотки или плазмы крови следует развести физиологическим раствором в 10 раз, провести анализ и полученный результат умножить на 10.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО “Витал Девелопмент Корпорэйшн” по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27, корп. 38, лит. К, пом. 18,19.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и в испытательную лабораторию ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» по адресу:

125 367, Москва, Полесский проезд, д. 2, корп.1, пом. 3.

Тел/факс: (495) 942-53-39.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» Е.Н. Схолль-Энгбертс

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К.Варнавичус

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru