

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

Код за НК 024:2023– **53072**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

ТУ У 24.4-24607793-017-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ (ЛДГ) (кінетичний УФ метод)

ПРИЗНАЧЕННЯ**IVD**

Набір призначений для визначення сумарної активності лактатдегідрогенази (ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЛДГ₃, ЛДГ₄, ЛДГ₅) у сироватці крові людини в клініко-діагностичних, біохімічних лабораторіях та науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на відповідну кількість визначень лактатдегідрогенази (Див. **Примітку 4**):

REF HP015.01

33

REF HP015.03

100

Лінійність методу повинна зберігатися до швидкості зміни оптичної щільності ($\Delta E/xv$) 0,165 для хвилі Hg 340 нм (Див. **Примітку 3**).

Діапазон визначаємих активностей - від 4 МОд/л до 1600 МОд/л.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 7 %.

Чутливість ⁹ на 0,001 од. оптичної щільності/хв – не більше 20 МОд/л (340 нм).

Припустима похибка визначення - не більше 20 %.

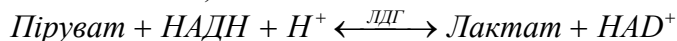
Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

УФ метод, що базується на оптимізованому стандартному методі відповідно до вимог DGKC (Німецького Товариства Клінічної Хімії).



НАДН и NAD⁺ - дві форми β -нікотінамід аденін дінуклеотиду

Піруват перетворюється в лактат з одночасним окислюванням НАДН. Швидкість зменшення абсорбції при 340 нм, що зв'язана з окислюванням НАДН, прямо пропорційна активності ЛДГ у пробі.

СКЛАД НАБОРУ

1. Буферний розчин ЛДГ (Р1) рН (7,4 $\pm$ 0,2)

- Піруват (1,5 $\pm$ 0,075) ммоль/л;

- ЕДТО (6,25 $\pm$ 0,3125) ммоль/л;

HP015.01 - 4 флакони по (20 $\pm$ 1) мл;

HP015.03 - 3 флакони по (80 $\pm$ 2) мл;

2. Субстратний розчин (Р2)

HP015.01 - 1 флакон з (20 $\pm$ 1) мл;

HP015.03 - 1 флакон з (60 $\pm$ 2) мл;

ЗРАЗОК**Сироватка.**

Гемоліз неприпустимий. Зразки стабільні при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С протягом 24 годин.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **340** нм в діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм (Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача).

2. Пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).

3. Піпетки місткістю 0,1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

4. Автоматична водяна баня або термостат, що підтримують температуру плюс (25 $\pm$ 1) °С, плюс (30 $\pm$ 1) °С або плюс (37 $\pm$ 1) °С.

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! НОВА ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ!!!!

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. Буферний розчин (P1) та Субстратний розчин (P2) - готови до роботи та стабільні до закінчення терміну придатності і не менше місяця після першого відкриття флаконів за умови збереження при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С, в темному місці (світлочутливі).
2. **Монореактив (P1)+(P2):** змішати 4 частини Буферного розчину (P1) із 1 частиною Субстратного розчину (P2). Стабільність **Монореактива (P1)+(P2):** до 1 тижня при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С; 1 доба при температурі від плюс 15 °С до плюс 25 °С.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Перед початком реакції кювету і розчини нагріти до необхідної температури протягом **5 хв**. При вимірюванні оптичної щільності потрібно підтримувати постійну температуру ($\pm 0,5$ °С).

ЗАПУСК РЕАКЦІЇ ЗРАЗКОМ (ТАБЛИЦЯ 1)

Таблиця 1

Температура	плюс 25 °С чи плюс 30 °С	плюс 37°С
Піпетувати, мкл		
Монореактив (P1)+(P2)	3000	3000
Інкубувати 5 хв, потім додати		
Зразок	100	50

В обох випадках перемішати, через 1 хв зчитувати змінення екстинції з інтервалом 1 хв (або через інші рівні проміжки часу) на протязі 3 хв по відношенню до **повітря або дистильованої води**. Розрахувати середнє змінення екстинції за 1 хв. ($\Delta E/\text{хв}$).

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки зі значеннями активності, визначеними даним методом. Наприклад: "ФілоНорм" або „ФілоПат” (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ (У ДОРΟΣЛИХ)

Температура:	25 °С	30 °С	37 °С
МОд/л	120 - 240	160 - 320	225 - 450

Для дітей у віці до 12 місяців активність ЛДГ при температурі 25 °С до 500 МОд/л.

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

РОЗРАХУНОК

Розрахунок активності ЛДГ ведуть за формулами (1) для плюс 25 °С чи плюс 30 °С або (2) для плюс 37°С.

$$\text{Активність ЛДГ} = \Delta E / \text{хв} \times 4925 \times K, \text{ МОд/л} \quad (1)$$

$$\text{Активність ЛДГ} = \Delta E / \text{хв} \times 9690 \times K, \text{ МОд/л, де} \quad (2)$$

K - коефіцієнт розведення зразка (якщо він був розведений);

4925 та 9690 - відповідні фактори перерахунку, МОд/л.

Температура	Конверсійний чинник		
	25°С	30°С	37°С
25°С	1.00	1.33	1.92
30°С	0.75	1.00	1.43
37°С	0.52	0.70	1.00

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! НОВА ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ!!!!

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	ЛДГ (Кінетика)
Тип аналізатора (напівавтомат/автомат)	будь-який
Метод виміру	Кінетика
Зміна оптичної щільності	Зменшується
Довжина хвилі, нм	340
Вимір проти	повітря
Температура реакції, °C	37
Чинник	-9690
Концентрація стандарту	-
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	3000 : 50
Кількість вимірів, не менше	3
Час передінкубації, с	60
Час реакції, с	60
Одиниці виміру	МОд/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	2,00
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	1,00
Максимально допустиме $\Delta E/xv$, А	0,165
Межі лінійності	0-1600
Максимум норми	450
Мінімум норми	225
Підтвердження лінійності (так/ні)	так

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Лактатдегідрогеназа присутня у всіх клітинах організму, але найбільш високий вміст спостерігається в печінці, серці, нирках, скелетній мускулатурі і еритроцитах.

Вміст ЛДГ у сироватці або плазмі підвищується при мегалобластній, гемолітичній, серповидноклітинній і перниціозній анеміях, неоплазії, лейкомії, лімфомі, інтенсивному карциноматозі, шоці, гіпоксії, крайній гіпертермії, цирозі, механічній жовтусі, гепатитах, ниркових захворюваннях багатьох форм, інфаркті нирки, інфаркті міокарду і легені, хворобі скелетної мускулатури, застійній серцевій недостатності, будь-якому пошкодженні клітин, яке призводить до втрати цитоплазми, гострому панкреатиті ^{6,7}.

Знижений рівень ЛДГ спостерігається при генетично обумовленому дефіциті субодиниць Н та М. Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди < 10 г/л), аскорбінова кислота до 500 мг/л, глюкоза до 10 г/л та білірубін (< 500 мг/л) не впливають ⁸. Гемоліз впливає на хід визначення.

Проведенню аналізу перешкоджають: оксалати, як антикоагулянт.

На хід визначення можуть впливати деякі ліки і речовини ⁵, наприклад: ацebutалол, анестетики, азлоцилін, цефалоспорини, дікумарол, етанол, філгастим, флюороурацил, гепарин, іміпрамін, інтерферон, ізотретиноїн, кетоконазол, лабеталол, метотрексат, метопролол, нітрофурантоїн, нестероїдні протизапальні засоби (наприклад, дифлунісал, кетопрофен, піроксікам), пеніциламін, піперацилін, плікаміцин, пропоксифен, хінідин, сульфонаміди, тікарцилін, третинат, вальпроєва кислота, оксалат, сечовина, амікан, метронідазол, кетопрофен, клофібрат, флюорид (низькі дози).

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ЗАПОБІЖНИ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Реактиви містять азид натрію як протектор (отруйна речовина). НЕ КОВТАТИ! Уникати попадання на шкіру і слизові оболонки.

ПРИМІТКИ

1. Даним методом аналізуються: негемолізована сироватка. УНИКАТИ ГЕМОЛІЗУ!

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! НОВА ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ!!!!

2. Можлива втрата активності ЛДГ при збереженні протягом 3 днів: при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С - до 2 %; при температурі від плюс 15 до плюс 25 °С - до 8 %.
3. Якщо швидкість зміни оптичної щільності реакційного розчину вище обговорених меж лінійності (див. вище межа лінійності методу), 0,1 мл зразку розвести 0,9 мл 0,9 % розчином хлористого натрію. Отриманий результат помножити на 10.
4. **Розраховано при витраті розчинів Монореактиву (P1)+(P2) - 3 мл.**

ЛІТЕРАТУРА

1. Z.KLIN.CHEM.KLIN.BIOCHEM. 8 (1970) 658.
2. Z.KLIN.CHEM.KLIN.BIOCHEM. 10 (1972) 182.
3. Weisshaar D.et.al., MED.WELT 26 (1975) 387.
4. Witt,I. & Trendelenburg,C., Z.KLIN.CHEM.KLIN.BIOCHEM. 20 (1982) 235-242.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
8. Ann. Biol. Clin. 1982; 40:123.
9. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,

Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32

Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34

Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54

E-mail: filicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>