

ИНСТРУКЦИЯ к набору реагентов для определения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) кинетическим методом

Торговая форма и состав набора

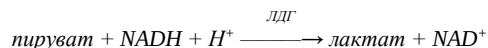
Кат №1.070.0.01	R1 Буферный раствор R2 Субстратный раствор	1 фл*80 мл 1 фл*20 мл
Кат №1.070.0.10	R1 Буферный раствор R2 Субстратный раствор	2 фл*80 мл 2 фл*20 мл

Введение

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – широко распространенный в организме фермент. Наибольшая концентрация фермента находится в печени, почках, сердце, скелетных мышцах и эритроцитах. Активность фермента повышается при анемии, циррозе, гипоксии, вирусном гепатите, почечных заболеваниях, болезнях мышечной мускулатуры, застойной сердечной недостаточности, инфаркте миокарда, инфаркте почки, остром панкреатите.

Принцип метода

Фотометрический метод определения активности ЛДГ основан на следующей ферментативной реакции:



Скорость уменьшения концентрации никотинамидадениндинуклеотида (NADH) пропорциональна каталитической активности ЛДГ в образце, что измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Аналитические характеристики набора:

Чувствительность: не более 6 Е/л
Линейность: до 2000 Е/л
Коэффициент вариации: не более 5%.

Образцы и их стабильность

Сыворотка, гепаринизированная плазма крови. *Избегать гемолиза!!*
Образцы можно хранить 4 часа при температуре 15-25°C или 1-2 дня при температуре 2-8°C. Рекомендуется проводить анализ на свежем материале, так как активность фермента ЛДГ падает при хранении.

Подготовка реагентов для анализа и их стабильность

Приготовление рабочего реагента для схемы 1.

Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1. *Не допускать вспенивания!*

Проведение анализа

Длина волны: 340 нм, температура измерений 37°C, кювета 1 см.

Схема 1. Запуск реакции образцом

Раствор	Опытная проба, мл
Рабочий реагент	1,0
<i>Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C</i>	
Образец	0,01
<i>Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (A₁). Через 60 с повторить измерение (A₂)</i>	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (A₁ – A₂).

Схема 2. Запуск реакции реагентом 2

Раствор	Опытная проба, мл
Реагент 1	0,8
Образец	0,01
<i>Перемешать, инкубировать 5 мин. при температуре 37°C</i>	
Реагент 2	0,2
<i>Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (A₁). Через 60 с повторить измерение (A₂)</i>	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (A₁ – A₂).

Расчет

Каталитическую активность ЛДГ (в Е/л) в исследуемой пробе определяют по формуле:

$$\text{Е/л} = \Delta A / \text{мин} * F$$

Величина F при λ=340 нм, длине оптического пути 1 см и 37°C:

$$F=16031$$

Параметры для автоматических биохимических анализаторов серии Mindray BS-120/200/300/330/400

При работе с отдельными реагентами:

Настройки для анализатора	
Тест	LDH
№	*
Полное название	LDH
Регистрация МИ в Росздравнадзоре	

www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Тип реакции	Кинетика
Измерение против	Воздуха или дистилл. воды
Первичная длина волны	340
Направление	Увеличение
Время реакции	4-12 комп.
Время инкубации	4
Температура измерений	37°C
Единицы	Е/л
Точность	Целое
Соотношение реагент/проба	100 : 1
Объем R1	320 мкл
Объем R2	80 мкл
Объем пробы	4 мкл
R1 холост	0-0
Смеш холост реаг	0-0
Диапазон линейности	до 2000 Е/л
Предел линейности	-
Чувствительность	не более 6 Е/л
Коэффициент вариации	не более 5%
Верхний предел абсорбции реагента против воды	2,0 Е
Нижний предел абсорбции реагента против воды	0,8 Е
Предел субстр	0
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	Двухточечная линейная
Чувствительность	0
Повторы	2
Интервал	0
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

* значения вводит оператор.

При работе с Рабочим реагентом меняются следующие параметры:

Время реакции	4-12 комп.
Время инкубации	-
Единицы	Е/л
Точность	Целое
Объем R1	400 мкл
Объем R2	-
Объем пробы	4 мкл

Нормальные значения

Сыворотка или плазма 225-450 Е/л.

Примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Реагенты содержат азид натрия в качестве консерванта: избегать попадания на кожу и слизистые!
- Пробы, содержащие ЛДГ с активностью выше 2000 Е/л, разводят 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:9, а полученный результат умножают на 10.
- Реагенты пригодны к использованию, если оптическая плотность рабочего реагента больше 1,000 (измерять при комнатной температуре относительно дистиллированной воды при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см).

Перерасчет единиц

1 Е/л = 1 мкмоль/(мин*л)
1 кат/л = 1 моль/(сек*л)
1 мккат/л = 60 Е/л

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев) в темном месте. Рабочий реагент стабилен в течение 10 дней при температуре 2-8°C или 48 часов при температуре 15-25°C.