



CP	9094/2009
	09.09.2011

Погоджено
Директор департаменту
регуляторної політики у сфері
обігу лікарських засобів
та продукції у системі МОЗ України
Ю.Б.Константинов
03 грудня 2009 р.

Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення активності лактатдегідрогенази
в сироватці крові.
ЛДГ-кін. «СПЛ»

IN VITRO

P1	1 x 240 мл
P2	1 x 60 мл

Зберігати при 2-8°C

Принцип методу

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) каталізує відновлення пірувата з НАДФ, відповідно до наступної реакції:



Рівень зниження концентрації НАДФ пропорційний каталітичній активності ЛДГ, що міститься у зразку.

Клінічне значення

ЛДГ - фермент з широким розподілом в тканинах організму. Найвища концентрація ЛДГ в печінці, серці, нирках, скелетних м'язах і еритроцитах.

Підвищений рівень ферменту відзначається в сироватці крові при інфаркті міокарда, хворобах печінки, лейкозах, захворюваннях нирок, м'язовій дистрофії і анемії, пухлинах, панкреатиті.

Клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. **Реагент 1.** Буфер: імідазол - 65 ммоль/л; піруват - 0.6 ммоль/л.
2. **Реагент 2.** Субстрат: NADH - 0.18 ммоль/л.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: від нижньої межі 30 Од/л до 1300 Од/л.



Відхилення від лінійності не перевищує 5 %. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:9 (в десять разів) NaCl 9 г/л та помножьте результат на дес'ять.

2. Чутливість не менш 20 Од/л.

3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для дослідження

Сироватка крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Не використовувати оксалати в якості антикоагулянтів, оскільки вони інгібують фермент. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Зразки стабільні 2 дні при 2-8°C.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 340 нм.

- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.

- Баня з термостатом з температурою 25°C, 30°C, 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$).

- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Приготування робочого реагенту **РР**:

змішайте 4 об'єми **Р1** (буфер) + 1 об'єм **Р2** (субстрат).

РР стабільний 15 днів при 2-8°C або 5 днів при кімнатній температурі 15-25°C.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 340 нм

кювета з товщиною оптичного шару 1 см

температура 25°C / 30°C / 37°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці:

	25-30°C	37°C
РР, мл	3,0	3,0
Зразок, мкл	100	50

Прим. Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

4. Перемішати, інкубувати протягом 1 хвилини.

5. Виміряти первинну оптичну щільність (E) дослідного зразка. Включити секундомір і виміряти E з інтервалом в 1 хвилину протягом 3-х хвилин.

6. Підрахуйте різницю між E і середнє значення зміни E за хвилину ($\Delta E/\text{хв}$).

Розрахунок результатів

При 25-30°C $A = \Delta E/\text{хв} \cdot x (-4925)$

При 37°C $A = \Delta E/\text{хв} \cdot x (-9690)$

де: A – активність ЛДГ в дослідному зразку, Од/л.



ΔE – зміна оптичної щільності дослідного зразка за хвилину, одиниць оптичної щільності.

(-4925), (-9690) - теоретичні чинники перерахунку для вираження активності ЛДГ в Од/л.

Для корекції результатів при інших температурах потрібно множити на:

Температура при вимірюваннях	Чинник переходу		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.33	1.92
30°C	0.75	1.00	1.43
37°C	0.52	0.70	1.00

Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

25°C	30°C	37°C
120-240 Од/л	160-320 Од/л	230-460 Од/л

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: контрольні сироватки «КОНТРОЛЬ НОРМА Bio», «КОНТРОЛЬ ПАТОЛОГІЯ Bio» (Spinreact, S.A. Іспанія), контрольні сироватки «Lyonorm HUM N, P» (Чехія), «Corma Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна).

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

Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, при зберіганні їх щільно закритими при 2-8°C, в захищеному від світла місці і уникаючи забруднення під час їх використання.

Не використовуйте реактиви після закінчення терміну придатності (1 рік).

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток або помутніння.
- ОЩ холостого зразка при 340нм <1.00.



ЛДГ-кін. «СпЛ»

Pyruvate. Кінетичний. DGKC

CP	9094/2009
	09.09.2011

ТОВ «СпайнЛаб»
61050, м. Харків,
вул. Франківська, 14
тел. (057) 768-07-14

Паспорт
Набір реагентів для визначення
активності лактатдегідрогенази
в сироватці крові
ЛДГ-кін. «СпЛ»

IN VITRO

Серія **17-304-2**

Дата виготовлення **04.12.2013**

Термін придатності **04.12.2014** Зберігати при 2-8°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-36035842-001:2009	Результати контролю
Фізико-хімічні показники			
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	P1. Буфер: Імідазол - 65 ммоль/л; піруват – 0.6 моль/л	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.2	P2. Субстрат: NADH – 0.18 ммоль/л	рідкий прозорий розчин	відповідає
2. pH реагентів			
2.1	P1	7.8 ± 0.2	відповідає
2.2	P2	10.0 ± 0.3	відповідає
3. Показники правильності визначення			
3.1	Чутливість не менш, Од/л	20	відповідає
3.2	Лінійність в діапазоні концентрацій, Од/л	30-1300 ± 5 %	відповідає
3.3	Коефіцієнт варіації	± 5 %	відповідає
4. Комплектація			
4.1	P1	1 фл. х 240 мл	відповідає
4.2	P2	1 фл. х 60 мл	відповідає

Термін зберігання – 1 рік з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-36035842-001:2009.

E-mail: spainlab@spainlab.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)