

Побудова калібрувального графіку

Таблиця 3

в мілілітрах

Компоненти	X	Калібрувальні проби				
		1	2	3	4	5
Дистильована вода	0,60	0,50	0,40	0,20	—	—
Калібратор 0,1 ммоль/л	—	0,10	0,20	0,40	0,60	0,80
Буферний розчин № 1	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,60
2,4-ДНФГ	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Витримують 20 хв при кімнатній температурі						
Гідроксид натрію	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Витримують 10 хв при кімнатній температурі. Вимірюють оптичну густину калібрувальних проб проти холостої проби						
мкмоль/(год·мл)	0	1,21	2,42	4,84	7,26	9,69
мккат/л	0	0,336	0,673	1,346	2,018	2,640
Од/л	0	20,20	40,40	80,80	121,2	161,8

Примітки

У наданій інструкції прийняті скорочення:

ЛДГ – фермент лактатдегідрогеназа;

НАД – нікотинаденіндінулеотид (кофактор ЛДГ);

2,4-ДНФГ - 2,4-динітрофенілгідразин;

Д – дослідна проба; X – холоста проба.

Референтні значення

ЛДГ_{загальна}: (0,8-4,0) мкмоль/(год·мл);

ЛДГ_{сечостаб}: (25,0-36,0) % від загальної.

Застережні заходи

1 Калібрувальний розчин, 2,4-ДНФГ – отруйні речовини. Гідроксид натрію – їдка речовина.

2 При випадковому попаданні всередину – випити 0,5 л води; при попаданні в очі – промити проточною водою; при попаданні на шкіру – відмити теплою водою з милом. У випадках серйозного пошкодження здоров'я має надаватися медична допомога.

3 Дотримуються відповідних правил техніки безпеки при роботі з біологічним матеріалом.

Дата останнього перегляду інструкції з використання 07.01.2026 р.

З питань контролю якості та придбання реактивів звертатися за адресою:

ПрАТ «Реагент», 49019, м. Дніпро, вул Ударників, 27. Факс: (056)372-35-54;
Мобіл.телефони: (050)452-20-76/85; (067)638-11-37; (050)481-75-46; (099)065-32-55

Відділ технічного контролю : (099)545-72-05 ; (050)495-80-78.

E-mail: reagent@ukr.net; reagenttn@ukr.net

РЕАГЕНТ

«ПОГОДЖЕНО»
Директор ДП «Український
медичний центр сертифікації»
Лебідєв М.С.
від 30.06.2016 р.

Технічна документація перевірена
Державним підприємством «Український
медичний центр сертифікації»:
Сертифікат перевірки технічної
документації № UA.TR.039.189-16
від 30.06.2016 р.



ДВ	047
30.06.2016	

ТУ У 24.4-13433137-047-2003

IVD

REF АФ 004-01

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ЗАГАЛЬНОЇ ТА СЕЧОСТАБІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ МЕТОДОМ СЕВЕЛА-ТОВАРЕКА «ЛДГ»

Призначення

Набір застосовують для визначення активності загальної та сечостабільної фракції лактатдегідрогенази у сироватці крові людини в клініко-діагностичних і біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Термін придатності та умови зберігання тест-набору

Гарантійний термін придатності з моменту виготовлення – 12 місяців при температурі 2–8° С. Не слід використовувати тест-набір після закінчення терміну придатності зазначеного на упаковці. Не допускати перемерзання або витримування компонентів тест-набору при високих температурах оточуючого повітря.

Кількість проб

Макровизначенням – 50 проб; напівмакро – 100 проб; мікро – 500 проб. Лабораторія має право робити перерахунок на свій об'єм фотометруємого розчину, співвідношення беруться в тих самих пропорціях. Співвідношення сироватки крові : буферного розчину : лактату натрію : НАД : 2,4-ДНФГ : гідроксиду натрію (1:8:2:3:5:50).

Аналітичні показники

Лінійна область визначення – (0-11,0) мкмоль/(год·мл).

Коефіцієнт варіації – не більше 7 %.

Склад набору

- | | |
|---|-----------------------------------|
| 1 Калібрувальний розчин пірвату натрію (1,0±0,02) ммоль/л | - 1 ампула з (5,0±0,1) мл |
| 2 Буферний розчин № 1, рН (8,8±0,05) | - 1 флакон з (50,0±1,0) мл |
| 3 Буферний розчин №2, рН (8,8±0,05) | - 1 флакон з (20,0±0,4) мл |
| 4 Субстрат НАД | - 1 мікропробірка з (45,0±1,0) мг |
| 5 Лактат натрію (4,50±0,09) ммоль/л | - 1 флакон з (1,50±0,05) мл |
| 6 Розчин 2,4-динітрофенілгідразину | - 1 флакон з (50,0±1,0) мл |
| 7 Гідроксид натрію 4,00±0,08 N | - 1 флакон з (50,0±1,0) мл |

Обладнання

- 1 Пробірки лабораторні ємністю 10 мл.
- 2 Піпетки ємністю: 0,1; 1,0 і 5,0 мл; лабораторні медичні дозатори.
- 3 Мірні колби ємністю 50 і 500 мл.
- 4 Термостатичне обладнання на 25 °С та 37 °С.
- 5 Фотометричне обладнання, кювети з довжиною оптичного шляху 10 (5 або 3) мм. Довжина хвилі 505 (500-560) нм.

Приготування робочих розчинів та умови їх зберігання

- 1 Калібрувальний розчин пірувату натрію з концентрацією 0,1 ммоль/л. Вміст ампули з концентрованим розчином калібрату кількісно переносять у мірну колбу на 50 мл. Доводять дистильованою водою до мітки. Розчин стабільний до 72 год при температурі (2 - 8) °С.
- 2 Буферні розчини № 1, № 2 - готові до застосування. Стабільні після відкупорювання до 1 місяця при температурі (2 - 8) °С.
- 3 Розчин НАД з концентрацією 3,0 г/л. Наважку НАД розчиняють у 15 мл дистильованої води. Розчин стабільний до 1 місяця при температурі (2 - 8) °С.
- 4 Розчин лактату натрію з концентрацією 0,45 ммоль/л. Концентрований розчин лактату натрію доводять дистильованою водою до 15 мл. Розчин стабільний в посуді з темного скла до 1 місяця при температурі (2 - 8) °С.
- 5 Розчин 2,4-ДНФГ - готовий до застосування. Стабільний 1 рік при кімнатній температурі. Зберігають у посуді з темного скла.
- 6 Розчин гідроксиду натрію з концентрацією 0,4 N. Вміст флакону з 50 мл концентрованого розчину гідроксиду натрію кількісно переносять у мірну колбу на 500 мл. Доводять до мітки охолодженою прокип'яченою дистильованою водою. Зберігають у герметичному пластиковому посуді при кімнатній температурі. Розчин стабільний до 3 місяців.

Вимоги до проби

- 1 Свіжа сироватка крові. Не охолоджувати. При визначенні активності ферменту у сироватці крові попередньо її розводять фізіологічним розчином (дистильованою водою) у співвідношенні 1:2, результат перемножувати на 3 не потрібно.
- 2 Калібрувальні, дослідні проби повинні співпадати за умовами проведення: довжині хвилі, обладнанні, кюветам, довжині оптичного шляху фотометруємого розчину, температурі та вологості оточуючого повітря та ін.

Принцип методу

Лактат натрію під дією лактатдегідрогенази [1.1.1.27.] у присутності НАД окислюється до піровиноградної кислоти. При додаванні

2,4-динітрофенілгідразину в лужному середовищі утворюється забарвлений гідразон піровиноградної кислоти. По величині абсорбції визначають активність ферменту.

Проведення аналізу

Визначення загальної ЛДГ проводять згідно схеми таблиці (1)

Таблиця 1 в мілілітрах

Компоненти	Макро		Напівмакро		Мікро	
	Д	Х	Д	Х	Д	Х
Сироватка (розвед 1:2)	0,10	—	0,05	—	0,01	—
НАД	0,30	0,30	0,15	0,15	0,03	0,03
Інкубують 5 хв при 37 °С. Потім додають розчини: буфер № 1 та лактат натрію, які попередньо прогрівають при 37 °С						
Буферний розчин № 1	0,80	0,80	0,40	0,40	0,08	0,08
Лактат натрію	0,20	0,20	0,10	0,10	0,02	0,02
Інкубують 15 хв при 37 °С						
2,4 – ДНФГ	0,50	0,50	0,25	0,25	0,05	0,05
Сироватка (розвед 1:2)	—	0,10	—	0,05	—	0,01
Витримують 20 хв при кімнатній температурі						
Гідроксид натрію	5,00	5,00	2,50	2,50	0,50	0,50
Перемішують. Витримують 10 хв при кімнатній температурі. Вимірюють оптичну густину дослідних проб проти холостої проби						

Визначення сечостабільної фракції ЛДГ - згідно схеми таблиці (2)

Таблиця 2 в мілілітрах

Компоненти	Макро		Напівмакро	
	Д	Х	Д	Х
Сироватка (розвед 1:2)	0,10	—	0,05	—
Буферний розчин № 2	0,08	0,08	0,04	0,04
НАД	0,30	0,30	0,15	0,15
Перемішують. Інкубують 60 хв при 25 °С				
Лактат натрію	0,20	0,20	0,10	0,10
Інкубують 15 хв при 37 °С				
2,4-ДНФГ	0,50	0,50	0,25	0,25
Сироватка (розвед 1:2)	—	0,10	—	0,05
Витримують 20 хв при кімнатній температурі				
Гідроксид натрію	5,00	5,00	2,50	2,50
Перемішують. Витримують 10 хв при кімнатній температурі. Вимірюють оптичну густину дослідних проб проти холостої проби				