



ІНСТРУКЦІЯ

ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ЗАГАЛЬНОЇ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ КІНЕТИЧНИМ УФ-МЕТОДОМ (ПІРУВАТ В ЛАКТАТ ПРИ 37 °С)

«ЛДГ-КІНЕТИКА-100-Р»

Призначення

Набір застосовують для визначення активності загальної лактатдегідрогенази у сироватці (плазмі) крові людини в біохімічних лабораторіях.

Комплектність/кількість проб

Номер	Склад набору	Кількість проб мікровизначенням
БХ 009-04	Буферний розчин: 2 x 40 мл Розчин субстрату: 2 x 10 мл	100/80 запуск реакції монореагентом/субстратом

Клінічне значення

ЛДГ – фермент, який локалізується у цитозолі клітин. Підвищення активності ЛДГ при інфаркті міокарда відбувається пізніше, ніж КК і АсАТ, протягом першої доби; висока активність ЛДГ1 зберігається протягом 12-14 діб. Саме зниження активності ЛДГ в крові до норми використовують як тест, який вказує на завершення періоду резорбції некротизованої тканини.

Принцип методу

Кінетичний УФ метод затверджений DGKC:
Піруват + NADH + H⁺ <LDH> Лактат + NAD⁺
НАДН окислюється до НАД⁺, зменшення поглинання при 340 нм (334 нм, 365 нм) прямо пропорційно активності ферменту у зразку

Збереження і стабільність реагентів

Гарантійний термін придатності в умовах збереження (2 – 8) °С не відкупореного тест-набору або складових реагентів – протягом всього терміну придатності вказаного на етикетках.

Застережні заходи

- Використовують набір тільки для діагностики in vitro.
- Реагенти вміщують в якості консерванту азид натрію (< 0,1 %), тому запобігати контакту зі шкірою та слизовими оболонками.
- Необхідно дотримуватись правил техніки безпеки при роботі з біологічним матеріалом. Тому що, зразки крові розглядаються як потенційно інфікованими (ВІЧ, вірус гепатиту В, вірус гепатиту С).
- Реагенти з іншими серійними номерами не повинні змішуватись або замінятися.

Утилізація відходів

Утилізація відходів повинна здійснюватися в відповідності з правилами безпеки Вашого закладу.

Приготування і стабільність монореагенту

- Для приготування монореагенту обережно змішують Буферний розчин і Розчин субстрату в співвідношенні 4 : 1, запобігають утворення бульбашок при змішуванні. Стабільність монореагенту: 5 діб при (2 – 8) °С; 24 год при (15 – 25) °С.

- Реагенти якісні при умові, якщо коефіцієнт поглинання монореагенту більше ніж 1,0 од. екстинції (проти дистилату, при 340 нм, у кюветі – 1,0 см, 25 °С).
- Ретельно закривайте флакони після відкупорювання. Запобігайте заморожування і забруднення. Захищайте від дії прямого світла!

Вміст інгредієнтів у робочому реагенті

Фосфатний буфер	pH (7,5 ± 0,05) од pH (50,0 ± 2,0) ммоль/л
Піруват	(0,6 ± 0,01) ммоль/л
НАДН	(0,25 ± 0,01) ммоль/л

Обладнання

- Будь який аналізатор (напівавтоматичний аналізатор ВА 88А; Stat Fax; Solar або інші відкритого типу);
- Будь який фотометр з термостатичним кюветним відділенням, за допомогою якого здійснюється вимірювання при довжині хвилі 340 нм (334, 365 нм).
- Загальне лабораторне обладнання.

Вимоги до проби

- Сироватка крові без слідів гемолізу. Гемоліз спричиняє помилково завищений результат.
- Еритроцити швидко віддаляють від сироватки, тому що активність ферменту в еритроцитах у 150 разів більше ніж у сироватці (плазмі).
- Плазма крові (літєва або амонійна сіль гепарину).
- Стабільність аналізу: 4 години при (2 – 8) °С.

Кількість проб

- При витраті монореагенту на одне визначення 1 мл – 100 проб (мікровизначенням); при запуску субстратом на одне визначення 1,25 мл – 80 проб.
- Лабораторія має право робити перерахунок на свій об'єм фотометруемого розчину, співвідношення беруться в тих самих пропорціях, а саме:
 - у випадку запуску монореагентом (25 °С) - співвідношення біопроби : монореагенту = 1 : 50;
 - у випадку запуску монореагентом (37 °С) - співвідношення біопроби : монореагенту = 1 : 100;
 - у випадку запуску бі-реагентами (25 °С) - співвідношення біопроби : Буферного розчину : Розчину субстрату = 1 : 40 : 10;
 - у випадку запуску бі-реагентами (37 °С), співвідношення біопроби : Буферного розчину : Розчину субстрату = 1 : 80 : 20.

Метрологічні характеристики

- Чутливість: 25 Од/л (0,41 мккат/л).
Коефіцієнт варіації: не більше 5 %.
Лінійність: від 25 до 2000 Од/л (0,41-3,33 мккат/л). При активності ЛДГ ≥ 2000 Од/л (≥ 3,33 мккат/л) пробу розводять, результат перемножують на коефіцієнт.
Перерахунок: Мккат/л = 60 Од/л (У/л)

Проведення аналізу

1 Схема аналізу. Запуск монореагентом

Компоненти	Об'єм
Прогріти (3 – 5) хв при обраній температурі	
Монореагент	1000 мкл
Дослідна рідина	10 мкл (для 37 °С) або 20 мкл (для 25 °С)
Ретельно перемішайте. Через 60 сек зробіть перше вимірювання (E ₀) проти повітря. Потім з інтервалом 60 сек робіть кожне наступне вимірювання (E ₁ ; E ₂)	

2 Схема аналізу. Запуск бі-реагентами

Компоненти	Об'єм
Прогріти (3 – 5) хв при обраній температурі	
Буферний розчин	800 мкл
Розчин субстрату	200 мкл
Ретельно перемішайте	
Дослідна рідина	10 мкл (для 37 °С) або 20 мкл (для 25 °С)
Ретельно перемішайте. Через 60 сек зробіть перше вимірювання (E ₀) проти повітря. Потім з інтервалом 60 сек робіть кожне наступне вимірювання (E ₁ ; E ₂)	

3 Мінімальна кількість вимірювань – не менше 3 (E₀; E₁; E₂). Розрахунок ΔE/хв, для цього випадку, робиться за формулою:

$$\Delta E/\text{хв} = \frac{(E_0 - E_1) + (E_1 - E_2)}{2}$$

4 Але, для отримання більш точнішого результату рекомендується кількість вимірювань робити не менше 5 (E₀; E₁; E₂; E₃; E₄). Особливо у випадках, коли обладнання у експлуатації знаходиться більш, ніж 5 років. Розрахунок ΔE/хв, для цього випадку, робиться за формулою:

$$\Delta E/\text{хв} = \frac{(E_0 - E_1) + (E_1 - E_2) + (E_2 - E_3) + (E_3 - E_4)}{4}$$

5 Розрахунок активності ферменту робиться за формулою:

$$\text{ЛДГ (Од/л)} = \Delta E/\text{хв} \times F$$

6 Фактор (F) залежить від довжини хвилі, обладнання і індивідуально корегується на кожну серію тест-набору.

7 Значення фактору перерахунку

λ	334 нм	340 нм	365 нм
F (25°C)	6882	6750	12508
F (37°C)	13764	13500	25015

Референтні значення для дорослих

Одиниці\температура	25 °С	30 °С	37 °С
Од/л	120-240	160-320	225-450
Мккат/л	2,0-4,0	2,67-5,33	3,75-7,5

Для дітей до 12 місяців – при 25 °С - до 500 Од/л

Контроль якості

1 Правильність визначення активності ферменту перевіряється будь якими контрольними сироватками, атестованими за кінетичним УФ-методом, піруват в лактат (довжина хвилі та температура визначення повинні відповідати даним атестату).

2 Контрольні сироватки повинні мати документи (Декларації Відповідності), що підтверджують правомірність використання їх в Україні («Cormey serum HN», «Cormey serum HP» або інші).

Калібрування

1 Калібрувальний графік слід будувати: через кожні 12 тижнів; при зміні номера серії набору реагентів; контрольні значення змінились або знаходяться по за інтервалу контрольної сироватки.

Параметри програмування

Найменування тест-набору	«ЛДГ»
Тип аналізатору	Будь який відкритого типу
Метод вимірювання	Кінетика
Змінення оптичної густини	Зменшується
Довжина хвилі, нм	340
Вимірювання проти	повітря
Температура реакції, °С	37
Розрахунок	За фактором
Фактор	13500
Концентрація стандарту	-
Співвідношення-монореагент монореагент/проба (мкл/мкл)	100 : 1 (1000/10)
Співвідношення-бі-реагентами Буферний розчин/Розчин субстрату/проба (мкл/мкл)	80:20:1 (800/200/10)
Кількість вимірювань, не менше	3
Час попередньої інкубації, с	60
Час реакції (Δ), с	60
Загальний час реакції мін, с	120 (2Δ x 60)
Загальний час реакції мак, с	240 (4Δ x 60)
Одиниці вимірювання	Од/л (мккат/л)
Верхня межа оптичної густини контрольної проби, А	2,0
Нижня межа оптичної густини контрольної проби, А	1,00
Межі діапазону лінійності	25 - 2000 Од/л
Максимальне значення норми	450 Од/л
Мінімальне значення норми	225 Од/л

Інтерференція

Впливом наступних речовин можна нехтувати при вмісту на рівні або нижче вказаних за таблицею значень

Речовина	Концентрація
Білірубін	20 мг/дл
Гемоглобін	12,5 г/дл
Аскорбінова кислота	62 мг/дл
Тригліцериди	500 мг/дл

Дата останнього перегляду інструкції з використання 07.01.2026 р.

З питань контролю якості та придбання реагентів звертайтеся за адресою:



ПрАТ «Реагент», 49019, м. Дніпро, вул Ударників, 27. Факс: (056)372-35-54. Мобіл. телефони: (050)452-2076/85; (067)638-11-37; (050)481-75-46; (099)065-32-59.

Відділ технічного контролю :

(099)545-72-05; (050)495-80-78.

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