



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор ООО «Хоспитекс Диагностика»

К.А. Константинов

3 августа 2009 г.

М.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности лактатдегидрогеназы

ПРИНЦИП МЕТОДА	Фермент лактатдегидрогеназа (ЕС 1.1.1.27., L-лактат: НАД ⁺ оксидоредуктаза; ЛДГ) катализирует превращение пирувата в лактат в присутствии НАДН, который переходит в НАД ⁺ . Скорость превращения НАДН в НАД ⁺ , измеренная при 340 нм, пропорциональна активности ЛДГ.
СОСТАВ НАБОРА	Реагент R1: буферный раствор (2х24 мл, 4х24 мл, 8х24 мл) Фосфатный буфер, pH 7,5.....50 ммоль/л Пируват натрия.....0,60 ммоль/л Реагент R2: раствор кофермента (2х6 мл, 4х6 мл, 8х6 мл) НАДН.....0,18 ммоль/л Стабилизаторы и консерванты
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	Набор обеспечивает линейную область определения активности лактатдегидрогеназы в диапазоне от 10 до 4000 Ед/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность не более 5 Ед/л, коэффициент вариации результатов определения – не более 5%. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом. Нормальные величины активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови человека составляют 225 – 450 Ед/л. Рекомендуется в каждой лаборатории установить свой диапазон нормальных величин.
ОБРАЗЦЫ	Сыворотка крови без гемолиза. Плазма с гепарином или ЭДТА. Сыворотку и плазму следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	Реагенты R1 и R2 содержат азид натрия. Не допускать попадания на кожу и слизистые. 2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами. Не пипетировать ртом; при проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.
ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ	- спектрофотометр или фотоэлектроколориметр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1 см; - секундомер; - пипетки, позволяющие отбирать объемы 10 и 1000 мкл; - коническая колба вместимостью 100 мл; - вода дистиллированная; - 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).
ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ	Приготовление рабочего реагента: смешать в конической колбе, вместимостью 100 мл, 4 объема реагента R1 и 1 объем реагента R2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами R1 и R2 непосредственно после каждого использования. Рабочий реагент стабилен в течение 30 дней при хранении в защищенном от света месте при температуре 2 – 8 °С
ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	Рабочий реагент: 1000 мкл Пробирки с рабочим реагентом необходимо предварительно прогреть в течение 5 минут при 37 °С. Проба 10 мкл Смешайте и инкубируйте в течение 60 секунд при 37 °С, затем измерьте оптическую плотность 3 раза с интервалом в 1 минуту. Рассчитайте изменение оптической плотности за 1

