

ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА ДиаВетТест



Набор ветеринарных диагностических реагентов для определения активности лактатдегидрогеназы в крови животных.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент, катализирующий обратимое превращение лактата в пируват в присутствии НАД в процессе гликолиза. Высокая активность ЛДГ присуща многим тканям, в первую очередь, печени, скелетным мышцам, миокарду, а также наблюдается в легочной ткани, почках, поджелудочной железе и желудке. Поскольку в тканях активность фермента высока, даже относительно небольшое тканевое повреждение или слабый гемолиз приводят к значительному повышению активности ЛДГ в циркулирующей крови. Из этого следует, что любые заболевания животных, при которых разрушаются клетки, содержащие изоферменты ЛДГ, сопровождаются повышением ее активности в сыворотке крови. Это может быть при таких заболеваниях как, инфаркт миокарда, повреждение и дистрофия скелетных мышц, некротическое поражение почек и печени, холестатические заболевания печени, панкреатит, воспаление легких, опухоли различной локализации, гемолитические анемии и т.д.

Показания к исследованию

- повреждение тканей различной этиологии.

Информация для заказа

Кат. №	Состав, мл		Объем, мл
	Реагент 1	Реагент 2	
DV 783 001	2x68	2x17	170
DV 783 002	6x68	6x17	510

Метод

Оптимизированный УФ тест. Лактатдегидрогеназа катализирует реакцию образования лактата из пирувата с одновременным окислением НАДН. Скорость образования НАД, сопровождающаяся понижением оптической плотности образца, прямо пропорциональна активности лактатдегидрогеназы и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Аналитические характеристики

- Линейность в диапазоне от 60 до 1200 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 40 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 5%.

При активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови более 1200 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту ΔЕ/мин не должно превышать 0,15) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

Контроль качества

При работе на биохимических анализаторах рекомендуется использовать мультикалибратор TruCal U фирмы [DiaSys](#). Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P (DGKC opt. 1970 37 °C), DiaSys, Германия.

Подготовка животного к исследованию

У моногастричных животных кровь берут до кормления в утренние часы, у жвачных – утром, через 4 часа после кормления. Можно пить воду.

Исследуемые образцы

Негемолизованный сыворотка крови. Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови. Стабильность в сыворотке или плазме: 4 дня при 15–25°C, 6 недель при 2–8°C.

Меры предосторожности

- В реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. Не глотать!
- Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами.

Подготовка к анализу

Монореагентная схема — запуск реакции образцом.

Для приготовления рабочего реагента: смешать 4 объема реагента 1 и один объем реагента 2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 после отбора аликвот. Оставить свежеприготовленный рабочий реагент на 20-30 мин при комнатной температуре (15-25°C) для уравнивания компонентов смеси.

Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Проведение анализа

Перед проведением анализа рабочий реагент следует нагреть до температуры 37±1,0°C в течение 5 мин. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице.

<i>Монореагентная схема – запуск реакции образцом.</i>				<i>Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.</i>			
<i>Отмерить, мкл</i>	<i>Контрольная (холостая) проба</i>	<i>Калибровочная проба</i>	<i>Опытная проба</i>	<i>Отмерить, мкл</i>	<i>Контрольная (холостая) проба</i>	<i>Калибровочная проба</i>	<i>Опытная проба</i>
Образец/ Мультикалибратор	-	10	10	Образец/ Мультикалибратор	-	10	10
Рабочий реагент	-	1000	1000	Реагент 1	-	1000	1000
Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A ₁) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A ₂) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм при 37°C, относительно холостой пробы в кюветках с длиной оптического пути 1 см. Вычислить среднее значение ΔA/мин <small>образца/мультикалибратора</small>				Перемешать, инкубировать 1-5 мин, затем добавить:			
				Реагент 2	-	250	250
				Перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм, при 37°C относительно холостой пробы в кюветках с длиной оптического пути 1 см.			

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы (соотношение сыворотки крови к рабочему реагенту составляет 1:100).

Адаптации для Вашего анализатора запрашивайте дополнительно.

Расчёты: По фактору

Для определения активности лактатдегидрогеназы по фактору калибратор не требуется. Из значений оптической плотности вычислить ΔA/мин и умножить на соответствующий фактор из нижеследующей таблицы:

Активность ЛДГ (Е/л) = ΔA/мин × фактор

Запуск субстратом 20000

Запуск образцом 16030

Значение фактора рекомендуется уточнять по мультикалибратору TruCal U, а контроль качества проводить по сывороткам TruLab N и TruLab P производства компании DiaSys.

По калибратору:

Активность ЛДГ (Е/л) = $\frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{образца}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{мультикалибратора}}} \cdot \times$ активность ЛДГ в мультикалибраторе (Е/л)

Примечание. 1 Е/л = 16,67 нмоль/л/ (с × л).

Интерпретация результатов исследования

Единицы измерения: Ед/л.

Референсные значения: собака – 25,1-219,2 Ед/л, кошка – 35,1-224,9 Ед/л, лошадь – 102,3-340,6 Ед/л, крупный рогатый скот – 308,6-938,1 Ед/л, свинья - 159,6-424,7 Ед/л.

Повышение уровня лактатдегидрогеназы:

- любые заболевания, сопровождающиеся разрушением клеток (шок, гипоксия, гемолиз и т.д.);
- повреждения и дистрофия скелетных мышц;
- инфаркт миокарда;
- некротическое поражение почек и печени;
- острый панкреатит;
- онкологические заболевания;
- гемолитические анемии;
- лептоспироз;
- инфекционный перитонит.

Понижение уровня лактатдегидрогеназы диагностического значения не имеет.

Транспортирование, условия хранения и эксплуатации набора

Транспортирование и хранение наборов должно производиться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается транспортирование и хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2-8°C в защищенном от света месте в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре 2-8°C не более 5 суток или при комнатной температуре (15-25°C) не более 8 часов.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Обезвреживание отходов

Утилизацию отходов после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами.

Литература

1. *Boyd J.W.* The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. *Кондрахин И.П.* Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. *Медведева М.А.* Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013 – 416 с.

4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.

5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.

6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М. : Софион. 2007, 456 с.

Изготовитель: АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Грузовая, д. 1а.

По вопросам, касающимся качества набора ([ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА DiaVetТест](#)), следует обращаться в [ООО «ДИАКОН-ВЕТ»](#) по адресу: 142290, г. Пушкино, Московской обл., ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-39; доб. 56-24/55-97.