**乳酸检测试剂盒(乳酸脱氢酶比色法)说明书**

**产品简介：**

乳酸(Lactic acid，LD)又称 2-羟基丙酸是一种化合物，是一种含有羟基的羧酸，分子式是 C3H6O3，参与生物化学很多反应过程。乳酸检测有化学氧化法、酶催化法、电化学法、酶电极感应器法。其中，酶催化法是使用乳酸脱氢酶 (LDH)催化乳酸氧化，生成丙酮酸和 NADH，通过分光光度法或荧光光度法测定 NADH 的生成量，进而计算出乳酸含量。

乳酸检测试剂盒(乳酸脱氢酶比色法)其检测原理是在 NAD 存在条件下，乳酸脱氢酶(LDH)催化乳酸生成丙酮酸，同时生成NADH。在碱性条件下显色剂与丙酮酸生成复合 物，并使平衡偏向乳酸氧化为丙酮酸的方向，驱动反应完成，生成的 NADH 与乳酸为等量摩尔。通过分光光度比色法测定 340nm 处吸光度，据此通过比色分析就可以计算出 LD水平。该试剂盒可用于检测细胞或组织的裂解液或匀浆液、血浆、血清等样品中内源性的乳酸含量。该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

**产品组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 编号  名称 | RC22163  50T | Storage |
| 试剂(A): 乳酸标准(20mmol/L) | 1ml | -20℃ 避光 |
| 试剂(B): 乳酸标准稀释液 | 1ml | RT |
| 试剂(C): C1: LD Assay buffer | 15ml | 4℃ 避光 |
| LD 显色液 C2: NAD buffer | 2 支 | -20℃ 避光 |
| C3: LDH solution | 50μl | -20℃ 避光 |
| 使用说明书 | 一份 | |

**自备材料：**

1、离心管或小试管

2、蒸馏水

3、水浴锅或恒温箱

4、比色杯

5、分光光度计

**操作步骤：**

1、准备样品：

血浆、血清、尿液及其他体液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，尿液通常也可以直接用于测定，-20℃冻存。

细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液，如果有必要需进行适当匀浆，低速离心取上清，-20℃冻存，用于 LD 的检测。

高浓度样品：如果样品中含有较高浓度的 LD，可以使用原有的裂解液或 PBS 等进行稀释，如鸡血清、血浆可稀释 5～10 倍后检测。

2、配制标准品工作液：取乳酸标准(20mmol/L) 0.1ml 溶解于 0.3ml 乳酸标准稀释液，使浓度达到 5mmol/L，即为标准品工作液-乳酸标准(5mmol/L)。4℃避光保存 2 个月有效。

3、LD 检测：按照下表设置空白管、对照管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的 LD 浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。样品的检测最好能设置平行管。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 加入物 | 空白管 | 对照管 | 标准管 | 测定管 |
| 蒸馏水/μl | 6 | 300 | — | — |
| 待测样品(血清、血浆、体液等)/μl | — | 6 | — | 6 |
| 乳酸标准(5mmol/L)/μl | — | — | 6 | — |
| LD 显色液/μl | 300 | — | 300 | 300 |
| 混匀，37℃水浴准确保温 5min,立即加入终止液终止反应。 | | | | |
| LD 终止液/ml | 1.8 | 1.8 | 1.8 | 1.8 |

4、用分光光度计检测，以蒸馏水调零，比色杯光径 1.0cm，读取空白管、对照管、标准管、测定管的 340nm 吸光度(即 A 空白、A 对照、A 标准、A 测定)，一般应数小时内检测完毕。

**计算结果：**

血清、血浆、尿液、脑脊液乳酸(mmol/L)=｛(A 测定−A 对照)/(A 标准−A 空白)｝×5

组织乳酸(mmol/g)=｛(A 测定−A 对照)/(A 标准−A 空白)｝×5/待测样品蛋白浓度(g/L)

式中：A 测定=测定管的吸光度值A 对照=对照管的吸光度值A 标准=标准管的吸光度值A 空白=空白管的吸光度值

**参考区间：**

|  |  |
| --- | --- |
| 健康成年人安静状态空腹静脉血 | 0.6～2.2mmol/L |
| 健康成年人安静状态空腹动脉血 | 0.3～1.47mmol/L |
| 健康成年人尿液乳酸排出量 | 5.5～22mmol/d |
| 新生儿毛细血管血 | 1.2～4.4mmol/L |
| 0～16 儿童脑脊液 | 1.1～2.8mmol/L |

# **注意事项：**

1、 本法适用于自动分析仪，分别监测测定管和标准管的吸光度升高速率，计算乳酸的浓度。

2、 如果没有分光光度计，也可以使用酶标仪测定。

3、 抗凝剂用肝素钠-氟化钠较好。抗凝血样品置于冰浴中送检，尽快分离出血浆等。

4、 草酸抗凝剂对 LDH 有一定的抑制作用。

5、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**6 个月有效。