

КОД 11580 1 x 50 мл	КОД 11581 1 x 200 мл
Хранить при 2-8°C	
Реагенты для измерения активности ЛДГ. Использовать только для работы «in vitro» в клинической лаборатории	

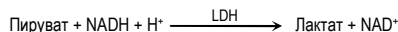
LACTATE DEHYDROGENASE (LDH)



ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА (LD/LDH) ПИРУВАТ

ПРИНЦИП МЕТОДА

Лактатдегидрогеназа (LD/LDH) катализирует восстановление пирувата NADH с образованием лактата и NAD⁺. Активность ЛДГ определяется по скорости уменьшения оптической плотности NADH, измеряемой при 340 нм^{1,2}.



НАБОРЫ

	КОД 11580	КОД 11581
А. Реагент	1 x 40 мл	1 x 160 мл
В. Реагент	1 x 10 мл	1 x 40 мл

СОСТАВ

А. Реагент: Трис 100 ммоль/л, пируват 2.75 ммоль/л, хлорид натрия 222 ммоль/л, pH 7.2

В. Реагент: NADH 1.55 ммоль/л, азид натрия 9.5 г/л.

Вредный (Xn): R22. Не глотать. R31: при контакте с кислотами высвобождает токсичный газ. S28.1: После контакта с кожей немедленно промыть водой. S45: при несчастном случае и плохом самочувствии, немедленно обратитесь за медицинской помощью.

ХРАНЕНИЕ

Хранить при 2-8°C.

Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

Признаки загрязнения:

– Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция бланка выше 1.200 при 340 нм (1 см кювета).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Рабочий реактив: Перенести содержимое одного флакона с реагентом В во флакон с реагентом А (примечание 1). Тщательно перемешать. Другие объемы Рабочего Реагента можно приготовить следующим образом: 4 мл Реагента А + 1 мл Реагента В. Стабильность раствора составляет 2 месяца при 2-8°C.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой с температурным режимом 25, 30 или 37°C и с фильтром 340 нм

– Кювета с длиной оптического пути 1 см.

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка или плазма, полученная с помощью стандартных процедур. Сыворотку или плазму необходимо отделить от сгустка максимально быстро. Лактатдегидрогеназа сохраняет стабильность в сыворотке или плазме в течение 24 часов при 2-8°C. Используйте гепарин в качестве антикоагулянта.

ПРОЦЕДУРА

1. Довести Рабочий Реагент и фотометр до температуры реакции.
2. Внести в кювету (примечание 2):

Рабочий Реагент	1.0 мл
Образец	20 мкл

3. Перемешать и поместить кювету в измерительную ячейку фотометра. Начать отсчет времени.
4. Через 30 секунд измерить абсорбцию, повторить измерение в течение 3 минут с интервалом в 1 минуту.
5. Рассчитать разницу между последовательными измерениями абсорбций и вычислить среднюю разницу абсорбции за минуту ($\Delta A/\text{мин}$).

РАСЧЕТ

Концентрация LD/LDH в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\Delta A/\text{мин} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon l \times Vs} = \text{Ед/л}$$

Коэффициент молярной абсорбции (ϵ) NADH при 340 нм составляет 6300, оптический путь (l) составляет 1 см, общий реакционный объем (Vt) равен 1.02, объем образца (Vs) равен 0.02, и 1Ед/л равен 0.0166 мккат/л. Для расчета активности фермента используйте следующие факторы:

$\Delta A/\text{мин}$	$\times 8095 = \text{Ед/л}$ $\times 135 = \text{мкКат/л}$
-----------------------	--

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Температура реакции	Взрослые	
	Ед/л	мкКат/л
25°C	105 - 210	1.70 - 3.50
30°C ²	140 - 280	2.30 - 4.70
37°C ¹	207 - 414	3.40 - 6.80

Величины для 25°C получены с помощью величин для 30°C с использованием фактора перевода. Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения контроля качества теста и процедуры исследования рекомендуется использовать Контрольную сыворотку Уровень I (код 18005, 18009 и 18042) и уровень II (код 18007, 18010 и 18043). Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

– Предел обнаружения: 4.7 Ед/л = 0.078 мккат/л.

– Предел линейности: 1250 Ед/л = 20.92 мккат/л. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 2 раза и повторить измерение.

– Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация	CV	n
324 Ед/л = 5.40 мккат/л	3.9%	20
1029 Ед/л = 17.15 мккат/л	2.3%	20

– Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация	CV	n
324 Ед/л = 5.40 мккат/л	6.6%	25
1029 Ед/л = 17.15 мккат/л	3.3%	25

– Чувствительность: 0.123 $\Delta A/\text{Ед} \cdot \text{мин} = 7.41 \Delta A \cdot \text{л/мккат} \cdot \text{мин}$.

– Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.

– Интерференция: Гемолиз влияет на результаты из-за высокой концентрации LD/LDH в красных клетках. Липемические образцы (триглицериды <10 г/л) и билирубин (<20 мг/дл) не влияют на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут исказить результат³.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Лактатдегидрогеназа присутствует во всех клетках тела, но в наиболее высоких концентрациях найдена в печени, сердце, почках, скелетной мышце и эритроцитах.

Общая концентрация ЛДГ в сыворотке или плазме повышена у пациентов с заболеваниями печени, почек, инфарктом миокарда, злокачественных опухолях, прогрессирующей мышечной дистрофии и почти в любом случае гемолиза^{4,5}.

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Данные реагенты могут быть использованы в различных автоматических анализаторах. Инструкции доступны по требованию.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de lactate deshidrogenasa en suero sanguíneo humano. Quim Clin 1989; 8: 57-61.
2. Scientific Committee. Recommendations pour la mesure de la concentration catalytique de la lactate deshidrogenase dans le serum humain a 30°C. Ann Biol Clin 1982; 40: 87-164.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.