

Nr kat. 11580 1 x 50 mL	Nr kat. 11581 1 x 200 mL
PRZECHOWYWAĆ W TEMP. 2-8°C	
Odczynniki do pomiaru stężenia LDH Tylko do użytku <i>in vitro</i> w laboratorium klinicznym	

## LACTATE DEHYDROGENASE (LDH)



## DEHYDROGENAZA MLECZANOWA (LDH) PIROGRONIAN

### ZASADA METODY

Dehydrogenaza mleczanowa (LD lub LDH) katalizuje redukcję pirogronianu przez NADH do mleczanu i NAD<sup>+</sup>. Stężenie katalityczne enzymu jest oznaczane na podstawie spadku NADH, mierzonego w 340 nm<sup>1,2</sup>.



### ZAWARTOŚĆ OPAKOWANIA

	Nr kat. 11580	Nr kat. 11581
A. Odczynnik	1 x 40 mL	1 x 160 mL
B. Odczynnik	1 x 10 mL	1 x 40 mL

### SKŁAD

A. Odczynnik: Bufor Tris 100 mmol/L, pirogronian 2.75 mmol/L, chlorek sodu 222 mmol/L, pH 7.2

B. Odczynnik: NADH 1.55 mmol/L, azydek sodu 9.5 g/L.

**UWAGA: H302: Działa szkodliwie po połknięciu. EUH031: W kontakcie z kwasami uwalnia toksyczne gazy. P301+P312: W PRZYPADKU POŁKNIECIA: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCIUB z lekarzem. P330: Wypłukać usta.**

Dalsze ostrzeżenia i środki ostrożności – patrz karta bezpieczeństwa produktu (SDS).

### PRZECHOWYWANIE

Przechowywać w temp. 2-8°C.

Odczynniki są stabilne do daty ważności podanej na etykiecie, jeżeli są szczelnie zamknięte oraz jeżeli nie dopuści się do zanieczyszczenia odczynników podczas użycia.

Oznaki zepsucia odczynników:

– Odczynnik: Obecność zawiesiny, zmętnienie, absorbancja ślepej poniżej 1.200 przy 340 nm (kuweta z drogą optyczną 1 cm).

### PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Odczynnik roboczy. Wlać zawartość buteleczki z odczynnikiem B do butelki z odczynnikiem A. Delikatnie wymieszać. Inne objętości odczynnika roboczego mogą być przygotowane w następującej proporcji: 4 mL odczynnika A + 1 mL odczynnika B. Stabilność przez 2 miesiące w temp. 2-8°C.

### WYPOSAŻENIE DODATKOWE

– Analizator, spektrofotometr lub fotometr z termostatomowanymi gniazdami na 25, 30 lub 37°C i filtrem o długości fali 340 nm.

– Kuwety z drogą optyczną 1 cm.

### MATERIAŁ DO BADAŃ

Surowica lub osocze pobrane zgodnie ze standardowymi procedurami. Surowicę lub osocze należy jak najszybciej oddzielić od skrzepu. Należy upewnić się, że próbka z osoczem została wystarczająco odwirowana do usunięcia płytek krwi. Nie używać próbek zhemolizowanych.

Dehydrogenaza mleczanowa jest stabilna w surowicy lub osoczu przez 2 dni w temperaturze pokojowej i przez 24 godziny w temp. 2-8°C. Jako antykoagulantu należy używać heparyny.

### WYKONANIE OZNACZENIA

1. Doprowadzić odczynnik roboczy i aparat do temperatury reakcji.

2. Odpipetować do kuwety: (Uwaga 1)

Odczynnik roboczy	1.0 mL
Próba badana	20 µL

3. Wymieszać i włożyć kuwetę do fotometru. Rozpocząć pomiar czasu.

4. Po 30 sekundach zarejestrować absorbancję początkową i wykonać 3 kolejne pomiary w odstępach jednoczynowych.

5. Obliczyć różnicę absorbancji pomiędzy kolejnymi pomiarami oraz średnią różnicę absorbancji na minutę ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### OBLICZENIA

Stężenie LDH w próbce oblicza się przy zastosowaniu poniższego ogólnego wzoru:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = U/L$$

Absorbancja molowa ( $\epsilon$ ) NADH przy 340 nm wynosi 6300, droga optyczna ( $l$ ) - 1 cm, całkowita objętość reakcji ( $V_t$ ) - 1.02, objętość próby badanej ( $V_s$ ) - 0.02 a 1 U/L równa się 0.0166  $\mu\text{kat/L}$ . Do obliczenia stężenia katalitycznego stosuje się następujące wzory:

$\Delta A/\text{min}$	$\times 8095 = U/L$
	$\times 135 = \mu\text{kat/L}$

### WARTOŚCI REFERENCYJNE

Temperatura reakcji	Dorośli	
	U/L	$\mu\text{kat/L}$
25°C	105-210	1.70-3.50
30°C <sup>2</sup>	140-280	2.30-4.70
37°C <sup>1</sup>	207-414	3.40-6.80

Wartości dla temp. 25°C uzyskuje się przeliczając wartości dla temp. 30°C za pomocą współczynnika konwersji. Podane zakresy mają jedynie charakter orientacyjny; każde laboratorium powinno ustalić własny zakres wartości referencyjnych.

### KONTROLA JAKOŚCI

W celu weryfikacji wykonania procedury oznaczenia zaleca się używanie surowicy kontrolnej poziom I (nr kat. 18005, 18009 i 18042) i poziom II (nr kat. 18007, 18010 i 18043).

Każde laboratorium powinno ustalić własny, wewnętrzny system kontroli jakości i procedur naprawczych jeżeli wartości kontrolne nie mieszczą się w zakresie dopuszczalnych tolerancji.

### CHARAKTERYSTYKA METROLOGICZNA

– Granica detekcji: 4.7 U/L = 0.078  $\mu\text{kat/L}$ .

– Granica liniowości: 1250 U/L = 20.92  $\mu\text{kat/L}$ . Przy wyższych wartościach rozcieńczyć surowicę wodą destylowaną w stosunku 1:2 i powtórzyć pomiar.

– Powtarzalność (wewnątrzserijna):

Średnie stężenie	CV	n
324 U/L = 5.40 $\mu\text{kat/L}$	3.9 %	20
1029 U/L = 17.15 $\mu\text{kat/L}$	2.3 %	20

– Odtwarzalność (międzyseryjna):

Średnie stężenie	CV	n
324 U/L = 5.40 $\mu\text{kat/L}$	6.6 %	25
1029 U/L = 17.15 $\mu\text{kat/L}$	3.3 %	25

– Czułość: 0.123  $\Delta\text{mA} \cdot \text{L} \cdot \text{U}^{-1} \cdot \text{min} = 7.41 \Delta\text{mA} \cdot \text{L} \cdot \mu\text{kat}^{-1} \cdot \text{min}$ .

– Poprawność: Wyniki uzyskane przy użyciu tego odczynnika nie wykazały różnic systematycznych w porównaniu z odczynnikami referencyjnymi. Szczegóły eksperymentów porównawczych dostępne są na życzenie.

– Interferencje: Hemoliza interferuje z powodu wysokiego stężenia dehydrogenazy mleczanowej w krwinkach czerwonych. Lipemia (triglicerydy < 10 g/L) i bilirubina (< 20 mg/dL) nie interferują. Inne leki i substancje mogą interferować<sup>3</sup>.

Podana charakterystyka metrologiczna została uzyskana w przypadku użycia analizatora. Wyniki mogą różnić się przy użyciu innego przyrządu lub procedury manualnej.

### CHARAKTERYSTYKA DIAGNOSTYCZNA

Dehydrogenaza mleczanowa występuje we wszystkich komórkach ciała, ale jej najwyższe stężenia występują w wątrobie, sercu, nerkach, mięśniach szkieletowych i erytrocytach.

Podwyższone stężenie całkowitej LDH w surowicy lub osoczu występuje u pacjentów z chorobami wątroby, nerek, z zawałem serca, w przypadku wielu nowotworów złośliwych, postępującej dystrofii mięśniowej i w prawie każdym przypadku hemolizy<sup>4,5</sup>.

Diagnoza kliniczna nie powinna być stawiana na podstawie wyników pojedynczego badania, ale powinna łączyć zarówno dane kliniczne jak i laboratoryjne.

### UWAGI

1. Odczynniki te mogą być stosowane w analizatorach automatycznych. Aplikacje do wielu z nich dostępne są na życzenie.

### BIBLIOGRAFIA

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