

Kapalné reagentie – připravené k použití

LDH-P

opt. DGKC

2 reagentie

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení laktát dehydrogenázy (LDH) v lidském séru nebo plazmě pomocí fotometrických systémů.

Ref. č.	Velikost kitu	Obsah
D03119B	1 x 1.25 L	1 x 1 L R1 + 1 x 0.25 L R2
D00656	5 x 100 mL	4 x 100 mL R1 + 1 x 100 mL R2
D94651	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
D00657	5 x 25 mL	4 x 25 mL R1 + 1 x 25 mL R2
D00658	5 x 10 mL	4 x 10 mL R1 + 1 x 10 mL R2
D76911	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 2 x 25 mL R2
D0432917	5 x 62.5 mL	4 x 62.5 mL R1 + 1 x 62.5 mL R2
DA0836	5 x 50 mL	5 x 40 mL R1 + 5 x 10 mL R2
DT1036	4 x 62.5 mL	4 x 50 mL R1 + 4 x 12,5 mL R2
DK0734	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
DE1836	2 x 62.5 mL	2 x 50 mL R1 + 2 x 12.5 mL R2

Dále nabízené:

D98485	5 x 3 mL	Kalibrátor	Diacal Auto
D98485SV	1 x 3 mL	Kalibrátor	Diacal Auto
D98481	12 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D14481	5 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D98481SV	1 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D98482	12 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P
D14482	5 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P
D98481SV	1 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P

PARAMETRY TESTU

Metoda:	UV, kinetická, klesající reakce, optimalizovaná DGKC
Vlnová délka:	340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm
Teplota:	25 °C, 30 °C, 37 °C
Vzorek:	Sérum, heparinová nebo EDTA plazma
Linearita:	do 1200 U/L na automatizovaných systémech
Citlivost:	Spodní limit detekce je 5 U/L

SHRNUTÍ [1,2]

Laktát dehydrogenáza (LDH) je enzym pozůstávající z pěti různých izoenzymů, který katalyzuje proměnu L-laktátu na pyruvát. LDH je přítomna v cytoplasmě všech lidských tkání s vyššími koncentracemi v játrech, srdečním a kostrovém svalu a s nižšími hodnotami v erytrocytech, pankreatu, ledvinách a žaludku. Zvýšené aktivity LDH se vyskytují u mnoha patologických stavů jako infarkt myokardu, rakovina, nemoci jater, krve nebo svalů. Nicméně, kvůli neexistující orgánové specifitě je pro diferenciální diagnostiku potřebné stanovení jejich izoenzymů nebo jiných enzymů jako alkalické fosfatázy nebo GPT (ALT)/GOT (AST).

PRINCIP TESTU

Pyruvát + NADH + H⁺ < $\frac{LDH}{}$ > Laktát + NAD⁺

SLOŽENÍ REAGENCIE

SLOŽKY	KONCENTRACE
Reagentie 1:	
Fosfátový pufr, pH 7.5	64 mmol/L
Pyruvát	0.80 mmol/L
Reagentie 2:	
Goodův pufr, pH 9.6	
NADH	1.0 mmol/L

PŘÍPRAVA REAGENCIE

Start substrátem:

Reagentie jsou připravené k použití

Start vzorkem:

Smíchejte 4 díly reagentie 1 s 1 dílem reagentie 2 (= pracovní reagentie).

STABILITA REAGENCIE A SKLADOVÁNÍ

Podmínky: Chraňte před světlem (R2)
Po použití okamžitě uzavřete
Zabraňte kontaminaci
Reagentie nezamrazujte!

Start substrátem:

Skladování: při 2 – 8 °C
Stabilita: do uvedeného data expirace

Start vzorkem (pracovní reagentie):

Stabilita: při 15 – 25 °C 8 hodin
při 2 – 8 °C 5 dnů

Pracovní reagentii je třeba chránit před světlem!

STABILITA VZORKU A SKLADOVÁNÍ [4]

Sérum, heparinová plazma nebo EDTA plazma
Stabilita: při 20 – 25 °C 4 dny
při 2 – 8 °C 6 týdnů

Zlikvidujte kontaminované vzorky.

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

Roztok NaCl (9 g/L)

Obecné laboratorní vybavení.

MANUÁLNÍ PŘÍPRAVA TESTU

Reagentie a vzorky nechte dosáhnout pokojové teploty.

Start substrátem

Napipetujte do zkumavek	25 °C, 30 °C	37 °C
Reagentie 1	1000 µL	1000 µL
Vzorek	20 µL	10 µL
Smíchejte. Inkubujte přibližně 1- 5 min. Potom přidejte:		
Reagentie 2	250 µL	250 µL
Smíchejte. Změřte počáteční absorbanci proti vzduchu po 1 minutě a spusťte stopky. Změřte absorbanci opět po přesně 1, 2 a 3 min. Stanovte $\Delta A/\text{min}$. během lineární části analýzy.		

Start vzorkem

Napipetujte do zkumavek	25 °C, 30 °C	37 °C
Pracovní reagentie	1000 µL	1000 µL
Vzorek	20 µL	10 µL
Smíchejte. Změřte počáteční absorbanci proti vzduchu po 1 minutě a spusťte stopky. Změřte absorbanci opět po přesně 1, 2 a 3 min. Stanovte $\Delta A/\text{min}$. během lineární části analýzy.		

VÝPOČET

S faktorem: (světelná dráha 1 cm)

$LDH [U/L] = \Delta A/\text{min} \times \text{Faktor}$

Faktory:

Start substrátem

	25 °C or 30 °C	37 °C
Faktor při 340 nm	10080	20000
Faktor při 334 nm	10275	20390
Faktor při 365 nm	18675	37060

Start vzorkem

	25 °C or 30 °C	37 °C
Faktor při 340 nm	8095	16030
Faktor při 334 nm	8250	16345
Faktor při 365 nm	15000	29705

S kalibrátorem:

$LDH [U/L] = \frac{\Delta A/\text{min} \text{ Vzorku}}{\Delta A/\text{min} \text{ Kalibrátoru}} \times \text{aktivita kalibrátoru [U/L]}$

PŘEVOD JEDNOTEKN

U/L x 0.01667 = µkatal/L

REFERENČNÍ ROZSAH [6] *

	25°C	30°C	37°C	Unit
Dospělí	< 240	< 346	< 480	[U/L]
	< 4	< 5.77	< 8	[µkat/L]

* Každá laboratoř by si měla zkontrolovat, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její populaci pacientů a v případě potřeby určit vlastní referenční rozsah.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

LINEARITA, ROZSAH MĚŘENÍ

Na automatizovaných systémech je test vhodný pro stanovení aktivit LDH do 1200 U/L.

V případě manuálního provedení je test vhodný pro aktivity LDH, které příslouchají maximální $\Delta A/\text{min}$ 0.15 při 340 a 334 nm nebo 0.08 při 365 nm.

Pokud jsou hodnoty překročeny, je třeba vzorek zředit 1 + 10 roztokem NaCl (9 g/L) a výsledky vynásobit 11.

CITLIVOST/LIMIT DETEKCE

Spodní limit detekce je 5 U/L.

PRECIZNOST (při 25 °C)

V rámci analýzy n = 20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	142	5.50	3.86
Vzorek 2	245	4.95	2.01
Vzorek 3	497	8.39	1.69

Mezi analýzami n = 20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	144	3.09	2.13
Vzorek 2	248	4.53	1.82
Vzorek 3	492	6.23	1.26

SPECIFICITA/INTERFERENCE

Žádná interference do:

Kyselina askorbová 30 mg/dL
 Bilirubin 40 mg/dL
 Triglyceridy 2000 mg/dL
 Hemolýza interferuje, protože LDH je uvolňována z erytrocytů.

Pro další informace o interferujících látkách viz Young DS [5].

POROVNÁNÍ METOD

Porovnání Dialab LDH-P (y) s komerčně dostupným testem (x) za použití 78 vzorků poskytlo následující výsledky:

$$y = 1.03x + 2.13 \text{ U/L}; r = 0.999.$$

KALIBRACE

Použití kalibrátoru LDH je volitelné.

Doporučujeme Dialab multi kalibrační sérum **Diacal Auto**. Tato metoda je dohledatelná k molárnímu absorpčnímu koeficientu.

KONTROLA KVALITY

Je možné použít všechna kontrolní séra s hodnotami LDH stanovenými touto metodou.

Doporučujeme Dialab multi-kontrolní sérum **Diacon N** (s hodnotami v normálním rozsahu) a **Diacon P** (s hodnotami v patologickém rozsahu).

Každá laboratoř by měla zavést opravná opatření v případě odchylek při měření kontrol.

AUTOMATIZACE

Speciální adaptace pro automatické analyzátoř mohou být vytvořeny na požádání.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencie obsahují jako konzervant azid sodný (0.95 g/L) Nepolykejte! Zabraňte styku s pokožkou a sliznicemi.
2. Ve velice výjimečných případech mohou vzorky od pacientů s gamapatií dávat falešné výsledky [7].
3. Viz prosím bezpečnostní list a dodržujte nutná opatření pro práci s laboratorními reagenty.

4. Pro diagnostické účely musí být výsledky vždy hodnoceny spolu se zdravotní historií pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými zjištěními.
5. Pouze pro profesionální použití!

NAKLÁDÁNÍ S ODPADEM

Postupujte prosím podle místních právních požadavků.

LITERATURA

1. Thomas L. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998.p.89-94.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tittz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999.617-721.
3. Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie. Empfehlungen der deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC). Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. Z Klin Chem Klin Biochem 1972;10:182-92.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p.26-7.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Fischbach F, Zawta B. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klin Lab 1992;38:555-61.
7. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assay: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2008; 45(9):1240-1243.

