ЛДГ (LDH) 1001260, 1001261

Лактатдегидрогеназа (К.Ф. 1.1.1.27). Кинетический УФ-тест. DGKC. Жидкий реагент.
IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1001260 20 x 3 мл Код: 1001261 10 x 15 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА
Лактатдегидрогеназа катализирует редукцию пирувата с помощью NADH. в соответствии со следующей реакцией:

$$\text{Пируват} + NADH + H^+ \xleftrightarrow{\text{ЛДГ}} \text{Лактат} + NAD^+$$

Скорость уменьшения концентрации NADH, измеряемая фотометрически при 340 нм, пропорциональна каталитической активности (концентрации) ЛДГ, присутствующей в пробе.[1]

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – это фермент, широко представленный во всех тканях тела человека. Особенно много его в печени, сердце, почках, скелетных мышцах и эритроцитах. Повышенные уровни фермента в сыворотке обнаруживаются при заболеваниях печени, инфаркте миокарда, заболеваниях почек, мышечной дистрофии и анемии[1,4,5]. Клинический диагноз не может быть поставлен по результату одного теста, он должен определяться по совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Реагент 1 **R1** буфер	Имидазольный буфер Пируват	65 ммоль/л 0,6 ммоль/л
Реагент 2 **R2** субстрат	NADH	0,18 ммоль/л

ПОДГОТОВКА
Рабочий реагент (R1+R2): Растворите 1 таблетку реагента R2 в 1 флаконе реагента R1.
Закройте крышку и тщательно перемешайте до полного растворения содержимого.
Стабильность: 2 дня при 2-8°C или 12 часов при комнатной температуре (15-25°C).

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
Все компоненты набора стабильны до указанной на упаковке даты (expiration date) в плотно закрытом флаконе при 2-8°C, в защищенном от света месте и с соблюдением правил, предотвращающих контаминацию при использовании. Не используйте таблетки при их разрушении. Не используйте реагенты после окончания срока годности.
Признаки порчи реагентов:
- присутствие частиц или мутности.
- абсорбция бланка (A) при 340 нм <1,000.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ
- Спектрофотометр и колориметр с фильтром 340 нм (или биохимический анализатор).
- Термостат с температурой 25, 30 или 37°C (± 0,1°C) (или биохимический анализатор).
- Соответствующие кюветы с оптическим путем 1,0 см.
- Общее лабораторное оборудование.

ПРОБЫ
Сыворотка[1], без гемолиза, отделить от сгустка насколько возможно быстро. Не используйте в качестве антикоагулянтов оксалаты, так как они ингибируют фермент. Стабильность 2 дня при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА
1. Условия теста:
   Длина волны : 340 нм
   Оптический путь : 1 см
   Температура : 25, 30 или 37°C (Температура должна быть стабильной (±0,5°C))
   Измерение : против бланка по дистиллированной воде или воздуху.
   Метод : кинетика по фактору (–9690), время задержки 60с, время реакции 180с
2. Настройте прибор на ноль по дистиллированной воде или воздуху.
3. Подогреть рабочий реагент и кюветы до нужной температуры (25/30/37°C). Пипетируйте в кювету непосредственно перед измерением:

	Полумикрометод		Микрометод		ChemWell	
	25 -30°C	37°C	25 -30°C	37°C	25 -30°C	37°C
Проба	100 мкл	50 мкл	20 мкл	10 мкл	8 мкл	4 мкл
Рабочий реагент (R1+2)	3,0 мл	3,0 мл	600 мкл	600 мкл	240 мкл	240 мкл

4. Перемешать, инкубировать в течение 1 мин.

5. Измерить начальную оптическую плотность (A), затем измерять оптическую плотность каждую минуту в течение 3-х мин.
6. Вычислить среднее изменение оптической плотности за минуту: ΔA/мин.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

Рассчитать активность ЛДГ в пробе, умножая ΔA/мин на следующие величины (факторы):

25 – 30°C **(Е/л)= ΔA**/мин **x –4925**

37°C **(Е/л)= ΔA**/мин **x –9690**

Единицы: 1 международная единица (Е/л или U/L) – это количество фермента, которое трансформирует 1 мкмоль субстрата в минуту при стандартных условиях. Концентрация выражается в единицах на литр пробы (Е/л).

Фактор для перевода международных единиц (Е/л) в единицы СИ (кат/л):

1 Е/л = 16.67×10^{-9} кат/л = 16.67×10^{-3} мккат/л; 1 мккат/л = 60 Е/л

Коэффициенты температурной конверсии

Для коррекции результатов относительно другой температуры умножьте на:

Температура исследования	Коэффициенты конверсии для		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.33	1.92
30°C	0.75	1.00	1.43
37°C	0.52	0.70	1.00

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контрольную сыворотку с каждой серией тестов. Мы рекомендуем контрольные сыворотки SPINTROL Normal и Pathological (Кат.№ 1002120 и 1002210). Если значения контролей выходят за указанный диапазон, проверьте прибор, реагенты и технику выполнения. Каждая лаборатория должна разработать собственную систему контроля качества и соответствующие действия, если контроли не показывают приемлемых результатов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[1]

Температура исследования	25°C	30°C	37°C
	120–240 Е/л	160–320 Е/л	**230–460 Е/л**

Эти значения приведены для ориентационных целей; каждая лаборатория должна представить свои собственные значения референтного диапазона.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: от определяемого уровня в 5,5 Е/л до предела линейности 1453 Е/л.

Если полученные результаты превышают предел линейности, пробы следует разбавить 1:10 физраствором (9 г/л NaCl) и повторить исследование, полученный результат умножить на 10.

Воспроизводимость:

	Внутри серии (n=20)		Между сериями (n=20)	
Среднее (U/L)	336	541	343	551
SD	3,81	5,52	4,68	6,66
CV (%)	1,13	1,02	1,36	1,21

Чувствительность: 1 Е/л= 0,0003 A/мин.

Правильность: Результаты, полученные с помощью реагентов SPINREACT (y) не показали систематических различий при сравнении с другими коммерческими реагентами (x).

Результаты, полученные при обследовании 50 пациентов, были следующие:

Коэффициент корреляции (r): 0,99. Уравнение регрессии. y=1.0031x + 0.8372.

Результаты оценки характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Гемолиз оказывает влияние на тест. Некоторые антикоагулянты, такие как оксалаты, влияют на тест[1]. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение ЛДГ, представлен Young et. al[2,3].

ПРИМЕЧАНИЕ

Реагенты могут быть использованы как на автоматических анализаторах, так и на обычных фотометрах с ручной процедурой. **Процедуры для некоторых автоматических анализаторов доступны по запросу**.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Pesce A. Lactate dehydrogenase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1124-117, 438.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.