

Liquick Cor-LDH



ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

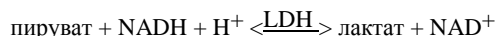
Название набора	Объём	Номер кат.
Liquick Cor-LDH mini	2 x 30 мл	1-298
Liquick Cor-LDH 30	5 x 30 мл	1-239

ВВЕДЕНИЕ

Лактатдегидрогеназа (LDH, LD) является внутриклеточным ферментом, находящимся во всех тканях. LDH катализирует обратимое преобразование лактата в пируват с использованием NAD^+ в роли кофактора. Дегидрогеназа является тетрамером, содержащим два возможных типа подъединиц: X и M. Различают 5 изоэнзимов, названных от LD-1 (X_4) до LD-5 (M_4). Изоэнзимы выступают в различных пропорциях в каждом виде тканей и обладают различной электрофоретической подвижностью, что и использовано в диагностике.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод кинетический, рекомендованный Немецким Обществом Клинической Химии (DGKC).



Скорость изменения коэффициента поглощения, измеренная при $\lambda=340$ нм прямо пропорциональна активности лактатдегидрогеназы.

РЕАКТИВЫ

Упаковка

	Liquick Cor-LDH mini	Liquick Cor-LDH 30
1-LDH	2 x 24 мл	5 x 24 мл
2-LDH	1 x 12 мл	1 x 30 мл

Реактивы хранящиеся при температуре 2-8°C сохраняют свою важность до даты срока годности, указанной на упаковке. Реагенты на борту аппарата при температуре 2-10°C стабильны 8 недель. Хранить от света и загрязнений!

Приготовление и прочность рабочего реактива.

Определение можно выполнить используя отдельные реактивы 1-LDH и 2-LDH либо рабочий реактив. Для его приготовления необходимо осторожно смешать реактив 1-LDH и 2-LDH в отношении 4+1. Избегать образования пены!

Прочность рабочего реактива: 5 дней при 2-8°C
24 часа при 15-25°C

Хранить от света и загрязнений!

Содержание ингредиентов в рабочем реактиве

фосфатный буфер (pH 7,5)	50 ммоль/л
пируват	0,6 ммоль/л
NADH	0,25 ммоль/л

Предупреждения и примечания

- Использовать только для целей диагностических in vitro.
- Реактивы консервированы азидом натрия 0,09%. Избегать попадания реактивов на открытую кожу и слизистую.
- Реактивы действительны, если коэффициент поглощения рабочего раствора превышает 1,000 (измерения относительно дистиллированной воды при длине волны 340 нм в кювете $l=1$ см, при температуре 25°C.)

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- автоматический анализатор либо фотометр, позволяющий снимать показания при длине волны 340 нм (Hg 334 нм, 365 нм);
- термостат на 25°C либо 37°C;
- общее оборудование лабораторное;

ПРОБЫ

Сыворотка либо плазма крови, взятой на гепарин без следов гемолиза.

Не употреблять крови, подвергнутой гемолизу, так как в эритроцитах активность LDH выше в 150 раз. В случае употребления плазмы, необходимо использовать такие коагулянты, как соль литиевая или аммониевая гепарина!

Активность LDH не стабильна и падает во время хранения образцов. Образцы можно хранить 4 часа при температуре 15-25°C, либо 1-2 дня при 2-8°C. Тем не менее рекомендуется проведение определений активности фермента на свежем материале.

ПРОЦЕДУРА

Набор предназначен как для мануального определения (методы Sample Start, Reagent Start) так и для определений при помощи автоматических анализаторов. Программы для анализаторов предоставляем на желание клиентов.

Определение мануальное

длина волны	340 нм (Hg 334 нм, 365 нм)
температура	25°C/37°C
кювета	1 см

Метод Sample Start

В кювету поместить:

рабочий раствор	1000 мкл
-----------------	----------

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

исследуемый материал	20 мкл (температура 25°C)
	либо 10 мкл (температура 37°C)

Тщательно перемешать, инкубировать в указанной температуре. По истечении 1 минуты отчитать коэффициент поглощения относительно воздуха или дистиллированной воды. Повторить измерение после очередных 1, 2, 3 минут. Посчитать среднее изменение коэффициента поглощения за минуту ($\Delta A/\text{мин.}$).

Расчёт результатов

активность LDH [Ед/л] = $\Delta A/\text{мин.} \times F$

Величина F зависит от длины волны света и выносит:

λ	25°C	37°C
340 нм	8095	16030
334 нм	8250	16345
365 нм	15000	29705

Метод Reagent Start

Определение можно проводить используя отдельные реактивы 1-LDH и 2-LDH.

В кювету поместить:

1-LDH	1000 мкл
-------	----------

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

исследуемый материал	20 мкл (температура 25°C)
	либо 10 мкл (температура 37°C)

Тщательно перемешать, инкубировать 1-5 минут. Затем добавить:

2-LDH	250 мкл
-------	---------

Тщательно перемешать и выполнить измерения как в методе Sample Start.

Расчёт результатов

активность LDH [Ед/л] = ΔA /мин. \times F

Величина F зависит от длины волны света и выносит:

λ	25°C	37°C
340 нм	10080	20000
334 нм	10275	20390
365 нм	18675	37060

РЕФЕРЕНСНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

сыворотка / плазма	25°C	37°C
взрослые	120 - 240 Ед/л	225 - 450 Ед/л

Рекомендуется для каждой лаборатории разработка собственных норм характеристических для локальной популяции.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется присоединение для каждой серии контрольных определений сывороток CORMAY SERUM HN (номер кат. 5-172) и CORMAY SERUM HP (номер кат. 5-173).

Для калибровки автоматических анализаторов рекомендуется использовать CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (номер кат. 5-174; 5-176) либо LEVEL 2 (номер кат. 5-175; 5-177).

Калибровочную кривую следует составлять каждые 8 недель, либо при каждой смене лота реагента.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОПРЕДЕЛЕНИЙ

Ниже указанные результаты получены при использовании автоматического анализатора Prestige 24i. В случае проведения анализов на другом анализаторе либо мануального измерения полученные результаты могут отличаться.

- **Чувствительность:** 25 Ед/л.
- **Линейность:** до 2000 Ед/л. Если активность LDH в исследуемом материале превышает 2000 Ед/л, материал необходимо развести в 10 раз 0,9% раствором NaCl и повторить определение. Результат умножить на 10.
- **Специфичность / Интерференция**
Билирубин до 20 мг/дл, гемоглобин до 12,5 г/дл, аскорбиновая кислота до 62 мг/л, и триглицериды до 500 мг/дл не оказывают влияния на результаты измерений.

Точность

Повторяемость (run to run) n=20	Средняя [Ед/л]	СКО [Ед/л]	КВ [%]
уровень 1	254,28	3,54	1,39
уровень 2	740,20	3,59	0,48

Воспроизводимость (day to day) n=80	Средняя [Ед/л]	СКО [Ед/л]	КВ [%]
уровень 1	280,97	2,58	0,92
уровень 2	777,83	6,02	0,77

Сравнение метода

Сравнение величины LDH из образцов полученных на Prestige 24i (y) и на COBAS INTEGRA 400 (x) с использованием 80 образцов дало следующие результаты:

$$y = 0,7571 x + 92,226 \text{ Ед/л;}$$

$$R = 0,9422 \quad (R - \text{коэффициент корреляции})$$

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Поступать согласно местным требованиям.

ЛИТЕРАТУРА

1. DGKC: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 8, 658-660 (1970).
2. DGKC: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 10, 281-291 (1972).
3. Elliot B.A., Wilkinson J.H.: Clin. Sci. 24, 343 (1963).
4. Weisshaar D., Gossrau E., Faderl B.: Med. Welt. 26, 387 (1975).
5. Berry A.J., Lott J.A., Grannis G.F.: Clin. Chem. 19/11, 1255-1258 (1973).
6. Burtis C.A., Ashwood E.R., ed. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 816-8, (1994).
7. Tietz N.W., ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 130 (1995).
8. Pesce A.J., Kaplan L.A.: Meth. in Clin. Chem., The C. V. Mosby Comp., 903-910 (1987).

Дата издания: 01. 2008.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

PZ CORMAY S.A.
ul. Wiosenna 22,
05-092 Łomianki, POLAND
tel.: +48 (0) 22 751 79 10
fax: +48 (0) 22 751 79 14
<http://www.pzcormay.pl>

01/08/01/08