

LACTATE DEHYDROGENASE-P

Cat. No.	Pack Name	Packaging (Content)
BLT00037	LDH 100	R1: 4 × 20 mL, R2: 1 × 20 mL instruction for use



INTENDED USE

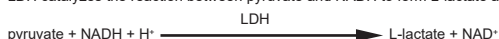
The kit is intended for *in vitro* photometric quantitative determination of lactate dehydrogenase in human serum and plasma on various automatic systems. In combination with other parameters it is intended for screening, monitoring and diagnosis of liver diseases, myocardial infarction, renal damage, anemias. For professional use in clinical laboratories only.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Lactate dehydrogenase (LDH) is an enzyme, consisting of five different isoenzymes which catalyze the interconversion of L-lactate and pyruvate. LDH is present in the cytoplasm of all human tissues with higher concentrations in liver, heart and skeletal muscle, and lower values in erythrocytes, pancreas, kidney and stomach. Elevated serum levels of LDH have been observed in a variety of disease states. The highest levels are seen in patients with megaloblastic anemia, disseminated carcinoma and shock. Moderate increases occur in muscular disorders, nephrotic syndrome and cirrhosis. Mild increases in LDH activity have been reported in cases of myocardial or pulmonary infarction, leukemia, hemolytic anemia and non-viral hepatitis.

PRINCIPLE

This assay follows the recommendations of the Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC)^{1,2}. LDH catalyzes the reaction between pyruvate and NADH to form L-lactate and NAD⁺.



The rate of oxidation of NADH is proportional to the activity of LDH present in the sample and decreasing of absorbance can be measured kinetically at 340 nm.

REAGENT DESCRIPTION AND COMPOSITION

R1		R2	
Tris Buffer (pH 7.5)	100 mmol/L	NADH	1.66 mmol/L
Pyruvate	2.0 mmol/L		

COMPOSITION OF REACTION MIXTURE

Tris Buffer (pH 7.5)	78 mmol/L
Pyruvate	1.6 mmol/L
NADH	0.33 mmol/L

REAGENT PREPARATION

Reagents are liquid, ready to use. For monoreagent method, prepare working reagent by mixing of 4 portions of reagent R1 with 1 portion of reagent R2.

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED WITH THE DEVICE

Any instrument with temperature control of 37 ±0.5 °C that is capable of reading absorbance at 340 nm may be used, general laboratory equipment.
 XL MULTICAL 4×3, Cat. No. XSYS0034
 XL MULTICAL 10×3, Cat. No. XSYS0122
 ERBA NORM 4×5, Cat. No. BLT00080
 ERBA NORM 10×5, Cat. No. XSYS0123
 ERBA PATH 4×5, Cat. No. BLT00081
 ERBA PATH 10×5, Cat. No. XSYS0124

STABILITY AND STORAGE

The unopened reagents are stable till the expiry date stated on the bottle and kit label when stored at 2–8 °C.

Two reagents method – substrate start

Reagents are ready to use. After opening, reagents are stable until expiry date at 2–8 °C if stored at appropriate conditions, closed carefully, protected from light and without any contamination.

Monoreagent method – sample start

Stability of working reagent: 24 hours at 15–25 °C in dark
 5 days at 2–8 °C in dark

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

It is recommended to follow ISO 15189 and laboratory instruction.

For specimen collection and preparation only use suitable tubes or collection containers.

Only the specimens listed below were tested and found acceptable.

Serum (free from hemolysis).

Plasma: Li-heparin plasma (free from hemolysis).

Plasma may be contaminated with platelets which contain high concentrations of lactate dehydrogenase and should be avoided^{7,8}.

The sample types listed were tested with a selection of sample collection tubes that were commercially available at the time of testing, i.e. not all available tubes of all manufacturers were tested. Sample collection systems from various manufacturers may contain differing materials which could affect the test results in some cases. When processing samples in primary tubes (sample collection systems), follow the instructions of the tube manufacturer.

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay.

See the Limitations and Interferences section for details about possible sample interferences.

Stability in serum / plasma ⁹ :	7 days at	15–25 °C
	4 days at	2–8 °C
	6 weeks at	-20 °C

In connection with certain diseases (e.g. hepatopathy, diseases of skeletal muscle, malignant tumors), the LDH-4 and LDH-5 isoenzyme portions are increased and unstable in cooled and frozen samples; this may lead to an incorrect LDH value in samples collected from patients suffering from such diseases.

Discard contaminated specimens.

CALIBRATION

Calibration with calibrator XL MULTICAL is recommended.

2 point calibration (blank and calibrator); distilled water is recommended as blank

Calibration frequency: it is recommended to do a calibration

- after reagent lot change
- as required by internal quality control procedures

QUALITY CONTROL

For quality control ERBA NORM and ERBA PATH are recommended. The control intervals and limits should be adapted according to each individual laboratory's requirements. Values obtained should fall within the defined intervals. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the defined limits.

TRACEABILITY

This method, calibrator XL MULTICAL and controls ERBA NORM and ERBA PATH have been standardized to DGKC recommended method^{1,2}.

ASSAY PROCEDURE

Wavelength: 340 nm

Cuvette: 1 cm

Two reagents method – substrate start

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Reagent 1	0.800 mL	0.800 mL	0.800 mL
Sample	–	–	0.020 mL
Calibrator	–	0.020 mL	–
Distilled water	0.020 mL	–	–

Mix and after 1 min. incubation (at 37 °C) add:

Reagent 2	0.200 mL	0.200 mL	0.200 mL
-----------	----------	----------	----------

Mix, incubate 1 min. at 37 °C and then measure the initial absorbance of calibrator and sample against reagent blank. Measure the absorbance change exactly after 1, 2 and 3 min. Calculate 1 minute absorbance change (ΔA/min).

Monoreagent method – sample start

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Working reagent	1.000 mL	1.000 mL	1.000 mL
Sample	–	–	0.020 mL
Calibrator	–	0.020 mL	–
Distilled water	0.020 mL	–	–

Mix, incubate 1 min. at 37 °C and then measure the initial absorbance of calibrator and sample against reagent blank. Measure the absorbance change exactly after 1, 2 and 3 min. Calculate 1 minute absorbance change (ΔA/min).

CALCULATION

$$1. \text{LDH (U/L)} = \frac{\Delta A_{\text{sam}} / \text{min.}}{\Delta A_{\text{cal}} / \text{min.}} \times C_{\text{cal}} \quad C_{\text{cal}} = \text{calibrator concentration}$$

$$2. \text{Using factor (f):} \quad \text{LDH (U/L)} = f \times \Delta A / \text{min} \quad f = 8095 \text{ (at 340 nm)}$$

ASSAY PARAMETERS FOR PHOTOMETERS

Mode	Kinetic	Reaction direction	Decreasing
Wavelength (nm)	340	Normal Low U/L	230
Sample Volume (μL)	10/20	Normal High U/L	460
Working Reagent Volume (μL)	500/1000	Linearity Low U/L	30.3
Lag time (sec.)	60	Linearity High U/L	2320
Kinetic interval (sec.)	60	Blank with	Water
No. of readings	3	Absorbance limit (min.)	0.8
Kinetic factor	8095	Units	U/L
Reaction temperature (°C)	37		

UNIT CONVERSION

U/L × 0.0167 = μkat/L

EXPECTED VALUES¹⁰

At 37 °C 230–460 U/L

It is recommended that each laboratory verifies this range or derives reference interval for the population it serves.

ANALYTICAL PERFORMANCE

Data contained within this section is representative for performance on ERBA XL-640 automatic system. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

Limit of quantification:

30.3 U/L
 Limit of quantification represents the lowest measurable analyte level. It is calculated as the determined activity of diluted sample to have CV <20 % (n = 30).

Linearity:

2320 U/L
 Linearity is the highest measured activity with recovery within ±10 % from theoretical value.

Precision:

Precision was determined by using controls in an internal protocol with repeatability (n = 20) and intermediate precision (2 aliquots per run, 2 run per day, 20 days). The following results were obtained:

Repeatability	Mean (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Sample 1	343.9	3.81	1.11
Sample 2	679.1	8.00	1.18

Intermediate precision	Mean (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Sample 1	342.2	6.50	1.90
Sample 2	675.4	11.61	1.72

Accuracy

Two different validated control materials were used. Determined bias is -7.6 % at the target value 495.0 U/L and 10.3 % at the target value 840.9 U/L.

Comparison

A comparison between XL-640 automatic system LDH (y) and a commercially available test (x) using 48 samples gave following results:

Linear regression:

$$y = 0.953x - 9.43 \text{ U/L} \quad r = 0.985$$

Passing-Bablok¹¹:

$$y = 0.961x - 5.75 \text{ U/L} \quad r = 0.958$$

Interferences

Criterion: Recovery within ±10 % of initial value of LDH activity in the sample without interfering substance.

Following substances do not interfere: haemoglobin up to 1 g/L, bilirubin up to 40 mg/dL, triglycerides up to 850 mg/dL. Significant hemolysis may increase LDH concentration because of high levels of LDH in the erythrocytes.

Drugs: No interference was found at therapeutic concentrations using common drug panels¹².

Limitations:

- Deteriorated reagents (e.g. exceeding the storage temperature) may give incorrect results. Minimal allowable absorbance of the reagent blank measured at 340 nm against the distilled water is 0.8.

- High concentration of haemoglobin, bilirubin and triglycerides in sample can interfere with determination of LDH. See paragraph Interferences.

WARNING AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person.

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

Hazards identification in accordance with Regulation (EC) No 1272/2008

R1, R2

Reagents of the kit are not classified as dangerous.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.



LACTATEDEHYDROGENASE-P

Kat. č.	Název	Balení
BLT00037	LDH 100	R1: 4 x 20 ml, R2: 1 x 20 ml návod k použití



ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická souprava pro kvantitativní *in vitro* stanovení laktátdehydrogenasy v lidském séru a plazmě na různých automatických systémech. V kombinaci s dalšími parametry je určena pro screening, monitorování a diagnostiku jaterních chorob, infarktu myokardu, poškození ledvin a anémii. Pouze pro odborné použití v klinických laboratořích.

KLINICKÝ VÝZNAM

Laktátdehydrogenasa (LDH) je enzym zahrnující pět různých izoenzymů, které katalyzují konverzi L-laktátu na pyruvát. LDH je přítomna v cytoplazmě všech lidských tkání s vyššími koncentracemi v játrech, srdci a kosterním svalstvu, a v menších množstvích v erytrocytech, pankreatu, ledvinách a žaludku.

Zvýšené hodnoty LDH v séru lze pozorovat při různých onemocněních. Nejvyšší hladiny jsou nalézány u pacientů s megaloblastickou anémií, diseminovaným karcinomem a šokem. Středně zvýšené jsou při svalových nemocech, nefrotickém syndromu a cirhose. Mírně zvýšené aktivity LDH bylo zaznamenáno v případech srdečního nebo plícního infarktu, leukémie, hemolytické anémie a nevírové hepatitidy.

PRINCIP METODY

Metoda stanovení je odvozena z doporučení Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC)^{1,2}. LDH katalyzuje reakci mezi pyruvát a NADH za tvorby L-laktátu a NAD⁺.



Rychlost oxidace NADH je úměrná aktivitě LDH ve vzorku a snižující se absorbance je měřena kineticky při 340 nm.

SLOŽENÍ ČINIDEL

R1		R2	
Tris pufr (pH 7,5)	100 mmol/l	NADH	1,66 mmol/l
pyruvát	2,0 mmol/l		

SLOŽENÍ REAKČNÍ SMĚSI

Tris pufr (pH 7,5)	78 mmol/l
Pyruvát	1,6 mmol/l
NADH	0,33 mmol/l

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla jsou kapalná, připravená k použití. Pracovní roztok pro monoreagenční metodu se připraví smícháním 4 dílů činidla R1 s 1 dílem činidla R2.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, ALE NEDODÁVANÝ SE SOUPRAVOU

Analýzátor s regulací teploty 37 ±0,5°C, který je schopen odečítat absorbanci při 340 nm, základní laboratorní vybavení.

XL MULTICAL 4x3, kat. č. XSYS0034
XL MULTICAL 10x3, kat. č. XSYS0122
ERBA NORM 4x5, kat. č. BLT00080
ERBA NORM 10x5, kat. č. XSYS0123
ERBA PATH 4x5, kat. č. BLT00081
ERBA PATH 10x5, kat. č. XSYS0124

STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Neotevřená činidla, skladovaná při 2–8 °C, jsou stabilní do doby expirace vyznačené na obale.

Dvoureagenční metoda – start substrátem

Činidla jsou připravena k použití. Po otevření jsou činidla stabilní do doby expirace, pokud jsou skladována při 2–8 °C ve vhodných podmínkách, po použití dobře uzavřena a chráněna před světlem a kontaminací.

Jednoreagenční metoda – start vzorkem

Stabilita pracovního roztoku: 24 hodin při	15–25 °C v temnu
5 dní při	2–8 °C v temnu

ODBĚR VZORKŮ A PŘÍPRAVA

Je doporučeno dodržovat ISO 15189 a laboratorní pokyny.

Pro odběr a přípravu vzorků používejte pouze vhodné zkumavky nebo odběrové nádoby.

Pouze níže uvedené vzorky byly testovány a jsou přijatelné:

Sérum (bez hemolýzy).

Plazma: Li-heparinovaná plazma (bez hemolýzy). Plazma může být kontaminována krevními destičkami, které obsahují velké množství LDH a je třeba se jim vyhnout³.

Uvedené druhy vzorků byly testovány s vybranými typy odběrových zkumavek, které byly komerčně dostupné v dané době, tzn. že do testu nebyly zařazeny všechny typy zkumavek všech výrobců. Systémy odběru vzorků různých výrobců mohou obsahovat různé materiály, které mohou mít v některých případech zásadní vliv na výsledky. Při zpracování vzorků v primárních zkumavkách (systémy odběru vzorků) dodržujte pokyny jejich výrobce. Před provedením testu oddělte sraženiny ve vzorcích centrifugací.

Podrobnosti o možných omezeních naleznete v sekci Interference.

Stabilita v séru / plazmě³:	7 dní při	15–25 °C
	4 dny při	2–8 °C
	6 týdnů při	-20 °C

V souvislosti s určitými chorobami (např. hepatopatie, onemocnění kosterního svalstva, maligní nádory) jsou izoenzymy LDH-4 a LDH-5 zvýšené a nestabilní ve zchladených a zmrazených vzorcích; to může vést k nesprávným hodnotám LDH ve vzorcích u pacientů trpících uvedenými nemocemi.

Nepoužívejte kontaminované vzorky.

KALIBRACE

Ke kalibraci se doporučuje XL MULTICAL.

Dvoubodová kalibrace (blank a kalibrátor); jako blank je doporučována destilovaná voda.

Frekvence kalibrace: je doporučeno provádět kalibraci:

- při změně šarže reagensů
- dle požadavků interních postupů kontroly kvality

KONTROLA KVALITY

Ke kontrole kvality se doporučuje ERBA NORM a ERBA PATH.

Intervaly a limity kontrol by měly být nastaveny podle požadavků každé jednotlivé laboratoře. Získané hodnoty by měly spadat do definovaných intervalů. Každá laboratoř by měla stanovit nápravná opatření, pokud hodnoty překročí definované rozmezí.

NÁVAZNOST

Metoda, kalibrátor XL MULTICAL a kontroly ERBA NORM a PATH byly standardizovány dle doporučení DGKC^{1,2}.

POSTUP MĚŘENÍ

Vínová délka: 340 nm

Kyveta: 1 cm

Dvoureagenční metoda – start substrátem

	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Činidlo 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Vzorek	–	–	0,020 ml
Kalibrátor	–	0,020 ml	–
Destilovaná voda	0,020 ml	–	–

Promíchá se a po 1 min. inkubaci (při 37 °C) se přidá:

Činidlo 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
-----------	----------	----------	----------

Promíchá se, inkubuje se 1 minutu při 37 °C a poté se změní počáteční absorbance kalibrátoru a vzorku proti reagenčnímu blanku. Měří se změna absorbance přesně po 1, 2 a 3 minutách. Vypočítá se průměrná změna absorbance za 1 minutu ($\Delta A/\text{min}$).

Jednoreagenční metoda – start vzorkem

	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Pracovní roztok	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Vzorek	–	–	0,020 ml
Kalibrátor	–	0,020 ml	–
Destilovaná voda	0,020 ml	–	–

Promíchá se, inkubuje se 1 minutu při 37 °C a poté se změní počáteční absorbance kalibrátoru a vzorku proti reagenčnímu blanku. Měří se změna absorbance přesně po 1, 2 a 3 minutách. Vypočítá se průměrná změna absorbance za 1 minutu ($\Delta A/\text{min}$).

VÝPOČET

$$1. \text{LDH } (\mu\text{kat/l}) = \frac{\Delta A_{\text{vz}}/\text{min.}}{\Delta A_{\text{kal}}/\text{min.}} \times C_{\text{kal}} \quad C_{\text{kal}} = \text{hodnota v kalibrátoru}$$

$$2. \text{ Použití faktoru} \quad \text{LDH } (\mu\text{kat/l}) = f \times \Delta A/\text{min} \quad f = 134,9 \text{ (při 340 nm)}$$

PARAMETRY MĚŘENÍ PRO FOTOMETRY

Režim	Kinetický	Reakční směr	Klesající
Vínová délka (nm)	340	Normální dolní hodnota ($\mu\text{kat/l}$)	3,83
Objem vzorku (μl)	10/20	Normální horní hodnota ($\mu\text{kat/l}$)	7,67
Objem pracovního roztoku (μl)	500/1000	Dolní mez stanovitelnosti ($\mu\text{kat/l}$)	0,51
Prodleva (sek.)	60	Linearita ($\mu\text{kat/l}$)	38,7
Kinetický interval (sek.)	60	Blank	Dest. voda
Počet odečtů	3	Limit absorbance	0,8
Kinetický faktor	134,9	Jednotky	$\mu\text{kat/l}$
Reakční teplota (°C)	37		

PŘEPOČET JEDNOTEK

U/l $\times 0,0167 = \mu\text{kat/l}$

REFERENČNÍ HODNOTY³

Při 37 °C 3,83–7,67 $\mu\text{kat/l}$

Doporučuje se, aby si každá laboratoř ověřila rozsah referenčního intervalu pro populaci, pro kterou zajišťuje laboratorní vyšetření.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostní charakteristiky byly získány na automatickém systému ERBA XL-640. Data získaná ve vaší laboratoři se mohou od těchto hodnot lišit.

Dolní mez stanovitelnosti: 0,51 $\mu\text{kat/l}$

Dolní mez stanovitelnosti označuje nejnižší měřitelnou hodnotu analytu. Je vypočítána jako stanovená aktivita zředěného vzorku s CV <20 % (n = 30).

Linearita: 38,7 $\mu\text{kat/l}$

Linearita je nejvyšší naměřená aktivita s výtěžností ±10 % od teoretické hodnoty.

Přesnost

Přesnost byla stanovena použitím kontrolních materiálů dle interního protokolu s opakovatelností (n = 20) a mezilehlou přesností (2 alikvoty v jednom měření, 2 měření denně, 20 dní). Byly získány následující výsledky:

Opakovatelnost	Průměr ($\mu\text{kat/l}$)	SD ($\mu\text{kat/l}$)	CV (%)
Vzorek 1	5,73	0,063	1,11
Vzorek 2	11,32	0,133	1,18

Mezilehlá přesnost	Průměr ($\mu\text{kat/l}$)	SD ($\mu\text{kat/l}$)	CV (%)
Vzorek 1	5,70	0,108	1,90
Vzorek 2	11,26	0,194	1,72

Správnost

Byly použity dva různé validované kontrolní materiály. Stanovený bias je -7,6 % pro hodnotu 8,25 $\mu\text{kat/l}$ a 10,3 % pro hodnotu 14,02 $\mu\text{kat/l}$.

Srovnání

Hodnoty LDH, stanovené ve 48 vzorcích na automatickém systému XL-640 (y) byly porovnány s komerčně dostupným testem (x):

Lineární regrese:
 $y = 0,953x - 0,157 \mu\text{kat/l} \quad r = 0,985$

Passing-Bablok¹¹:
 $y = 0,961x - 0,096 \mu\text{kat/l} \quad r = 0,958$

Interference

Kritérium: výtěžnost v rámci ±10 % počáteční hodnoty LDH ve vzorku bez interferujících látek. Následující analyty neinterferují: hemoglobin do 1 g/l, bilirubin do 40 mg/dl, triglyceridy do 850 mg/dl. Singifikantní hemolýza může zvýšit hodnoty LDH v důsledku vysokých hladin LDH v erytrocytech.

Léčiva: Při terapeutických koncentracích nebyla při použití běžných panelů léků zjištěna žádná interference¹².

Omezení

- Zhoršená kvalita činidel (například překročením skladovací teploty) může způsobit nesprávné výsledky. Minimální povolená absorbance blanku při 340 nm proti destilované vodě je 0,8.

- Vysoké koncentrace hemoglobinu, bilirubinu a triglyceridů ve vzorku mohou interferovat se stanovením LDH. Viz odstavec Interference.

VAROVÁNÍ A POKYNY PRO BEZPEČNÉ ZACHÁZENÍ

Určeno pro *in vitro* diagnostické použití oprávněnou a odborně způsobilou osobou. Jakákoliv závažná nežádoucí příhoda, ke které došlo v souvislosti s tímto prostředkem, musí být nahlášena výrobcem a státní autoritě.

Identifikace nebezpečnosti v souladu s Nařízením (EC) č. 1272/2008

R1, R2

Činidla soupravy nejsou klasifikována jako nebezpečná.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADY

Likvidace odpadních materiálů musí probíhat v souladu s místními předpisy.



Лактатдегидрогеназа LIQUID - определение каталитической активности



Кат.№	Наименование	Содержание упаковок
BLT00037	LDH 100	R1: 4 × 20 мл, R2: 1 × 20 мл инструкция по применению



ПРИМЕНЕНИЕ

Диагностический набор для количественного *in vitro* определения лактатдегидрогеназы в сыворотке и плазме крови человека на различных автоматических анализаторах. В сочетании с другими параметрами предназначен для скрининга, мониторинга и диагностики заболеваний печени, инфаркта миокарда, повреждения почек и анемии. Только для профессионального использования в клинических лабораториях.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – это фермент, включающий пять различных изоферментов, которые катализируют превращение L-лактата в пируват. ЛДГ присутствует в цитоплазме всех тканей человека с более высокими концентрациями в печени, сердце и скелетных мышцах и в меньших количествах в эритроцитах, поджелудочной железе, почках и желудке. Повышенные значения ЛДГ в сыворотке крови могут наблюдаться при различных заболеваниях. Наиболее высокие уровни обнаруживаются у пациентов с мегалобластной анемией, диссеминированным раком и шоком. Умеренное повышение наблюдается при мышечных заболеваниях, нефротическом синдроме и циррозе. Незначительное повышение активности ЛДГ отмечается при инфаркте сердца или легких, лейкозе, гемолитической анемии и невирусной гепатит.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения основан на рекомендациях Немецкого общества клинической химии (DGKC)^{1,2}. ЛДГ катализирует реакцию между пируватом и НАДН с образованием L-лактата и НАД⁺.



Скорость окисления НАДН пропорциональна активности ЛДГ в образце, и снижение поглощения измеряется кинетически при 340 нм.

ОПИСАНИЕ И СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

R1	R2	
ТРИС-буфер (pH 7,5)	100 ммоль/л	1,66 ммоль/л
Пируват	2,0 ммоль/л	

СОСТАВ РЕАКЦИОННОЙ СМЕСИ

ТРИС-буфер (pH 7,5)	78 ммоль/л
Пируват	1,6 ммоль/л
НАДН	0,33 ммоль/л

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Реагенты жидкие, готовые к использованию. Рабочий раствор для монореагентного метода готовят путем смешивания 4 частей реагента R1 с 1 частью реагента R2.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ (НЕ ВХОДЯТ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ)

Анализатор с регулируемой температуры 37 ± 0,5 °C, способный измерять поглощение при 340 нм, базовое лабораторное оборудование.
ЭРБА XL МУЛЬТИКАЛИБРАТОР 4x3, Кат.№. XSYS0034
ЭРБА XL МУЛЬТИКАЛИБРАТОР 10x3, Кат.№. XSYS0122
ЭРБА НОРМА 4x5, Кат.№. BLT00080
ЭРБА НОРМА 10x5, Кат.№. XSYS0123
ЭРБА ПАТОЛОГИЯ 4x5, Кат.№. BLT00081
ЭРБА ПАТОЛОГИЯ 10x5, Кат.№. XSYS0124

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ

Невыскранные реагенты, хранящиеся при температуре 2–8 °C, стабильны до истечения срока годности, указанного на упаковке.

Двухреагентный метод – запуск субстратом

Реагенты готовы к использованию. После вскрытия реагенты остаются стабильными до истечения срока годности, если хранятся при температуре 2–8 °C в подходящих условиях. После использования флаконы должны быть плотно закрыты и защищены от света и контаминации.

Монореагентный метод – запуск с образцом

Стабильность рабочего раствора: 24 часа при 15–25 °C в темноте
5 дней при 2–8 °C в темноте

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Рекомендуется следовать стандарту ISO 15189 и лабораторным инструкциям. Для сбора и подготовки образцов используйте только подходящие пробирки или контейнеры для сбора.

Только перечисленные ниже образцы были протестированы и признаны приемлемыми:

Сыворотка (без гемолиза)
Плазма: плазма с литий-гепарином (без гемолиза).
В плазме могут находиться тромбоциты, которые содержат высокие концентрации ЛДГ, поэтому следует избегать ее использования³.
Перечисленные типы образцов были протестированы с использованием набора пробирок для сбора образцов, которые были доступны в продаже на момент тестирования, т. е. не все доступные пробирки всех производителей были протестированы. Системы для сбора образцов от различных производителей могут содержать материалы, которые в некоторых случаях могут повлиять на результаты теста. При обработке образцов в первичных пробирках (системах для сбора образцов) следуйте инструкциям производителя пробирок.
Перед проведением анализа центрифугируйте образцы, содержащие осадок. Подробную информацию о возможном влиянии на результаты анализа образцов см. в разделе «Ограничения метода» и «Интерферирующие вещества».

Стабильность в сыворотке / плазме³:
7 дней при 15–25 °C
4 дня при 2–8 °C
6 недель -20 °C

При некоторых заболеваниях (например, гепатопатия, заболевание скелетных мышц, злокачественные опухоли) доли изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-5 могут быть повышены и нестабильны в охлажденных и замороженных образцах; это может привести к неверному значению ЛДГ в образцах, взятых у пациентов, страдающих такими заболеваниями. Не использовать контаминированные образцы!

КАЛИБРОВКА

Рекомендуется калибровка с помощью ЭРБА XL Мультикалибратора. 2-точечная калибровка (холостая проба и калибратор); в качестве холостой пробы рекомендуется использовать дистиллированную воду.

Частота калибровки: рекомендуется проводить калибровку:
• после смены партии реагента

• в соответствии с требованиями внутренних процедур контроля качества

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля качества рекомендуется использовать контрольные материалы ЭРБА НОРМА и ЭРБА ПАТОЛОГИЯ. Контрольные интервалы и пределы должны быть адаптированы в соответствии с требованиями каждой конкретной лаборатории. Полученные значения должны находиться в пределах установленных интервалов. Каждая лаборатория должна разработать корректирующие меры, которые необходимо принимать, если значения выходят за пределы установленных интервалов.

ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ

Данный метод, ЭРБА XL Мультикалибратор и контрольные материалы ЭРБА НОРМА и ЭРБА ПАТОЛОГИЯ были стандартизированы в соответствии с методом, рекомендованным DGKC^{1,2}.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Длина волны: 340 нм
Кювета: 1 см

Двухреагентный метод – запуск субстратом

	Холостой реагент	Калибратор	Образец
Реагент 1	0,800 мл	0,800 мл	0,800 мл
Образец	–	–	0,020 мл
Калибратор	–	0,020 мл	–
Дистиллированная вода	0,020 мл	–	–

Перемешать и после 1 минуты инкубации (при 37 °C) добавить:

Реагент 2	0,200 мл	0,200 мл	0,200 мл
-----------	----------	----------	----------

Перемешать, инкубировать в течение 1 минуты при 37 °C, а затем измерить начальную оптическую плотность калибратора и образца по отношению к холостому реагенту. Измерить изменение оптической плотности точно через 1, 2 и 3 минуты. Вычислить среднее изменение оптической плотности за 1 минуту (ΔA/мин).

Монореагентный метод – запуск образцом

	Холостой реагент	Калибратор	Образец
Рабочий раствор	1,000 мл	1,000 мл	1,000 мл
Образец	–	–	0,020 мл
Калибратор	–	0,020 мл	–
Дистиллированная вода	0,020 мл	–	–

Перемешать, инкубировать в течение 1 минуты при 37 °C, а затем измерить начальную оптическую плотность калибратора и образца по отношению к холостому реагенту. Измерить изменение оптической плотности точно через 1, 2 и 3 минуты. Вычислить среднее изменение оптической плотности за 1 минуту (ΔA/мин).

РАСЧЕТ

$$1. \text{ЛДГ (Ед/л)} = \frac{\Delta A_{\text{обр}} / \text{мин.}}{\Delta A_{\text{калиб}} / \text{мин.}} \times C_{\text{калиб}} \quad C_{\text{калиб}} = \text{концентрация калибратора}$$

$$2. \text{С использованием фактора:} \quad \text{ЛДГ (Ед/л)} = f \times \Delta A / \text{мин} \quad f = 8095 \text{ (при 340 нм)}$$

ПАРАМЕТРЫ АНАЛИЗА ДЛЯ ФОТОМЕТРОВ

Режим	Кинетический	Направление реакции	На понижение
Длина волны (нм)	340	Норма нижняя граница Ед/л	230
Объем образца (мкл)	10/20	Норма верхняя граница Ед/л	460
Объем рабочего реагента (мкл)	500/1000	Линейность низкая Ед/л	30,3
Время считывания (сек.)	60	Линейность высокая Ед/л	2320
Кинетический интервал (сек.)	60	Холостая проба по	Воде
Число считываний	3	Предел поглощения (минимальный)	0,8
Кинетический фактор	8095	Единицы измерения	Ед/л
Температура реакции (°C)	37		

ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЕДИНИЦ ИЗМЕРЕНИЯ

Ед/л × 0,0167 = мккат/л

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ¹⁰

При 37 °C 230–460 Ед/л

Каждой лаборатории рекомендуется верифицировать приведенный диапазон или определить собственный референтный интервал для обслуживаемой популяции.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данные, содержащиеся в этом разделе, являются репрезентативными для работы на автоматическом анализаторе ERBA XL-640. Данные, полученные в вашей лаборатории, могут отличаться от этих значений.

Предел количественного определения:

30,3 Ед/л
Предел количественного определения представляет собой самый низкий измеримый уровень аналита. Он рассчитывается как установленная активность разбавленной пробы. CV < 20 % (n = 30).

Линейность:

2320 Ед/л
Линейность – это максимальная измеренная активность с восстановлением в пределах ± 10 % от теоретического значения.

Воспроизводимость:

Воспроизводимость определялась с помощью контрольной во внутреннем протоколе с повторностью (n = 20) и промежуточной воспроизводимостью (2 аликвоты за прогон, 2 прогона в день, 20 дней). Были получены следующие результаты:

Повторяемость	Среднее (Ед/л)	SD (Ед/л)	CV (%)	Промежуточная воспроизводимость	Среднее (Ед/л)	SD (Ед/л)	CV (%)
Образец 1	343,9	3,81	1,11	Образец 1	342,2	6,5	1,90
Образец 2	679,1	8,00	1,18	Образец 2	675,4	11,61	1,72

Точность

Были использованы два различных валидированных контрольных материала. Систематическое отклонение составляет -7,6 % при целевом значении 495,0 Ед/л и 10,3 % при целевом значении 840,9 Ед/л.

Сравнение методов

Сравнение на автоматическом анализаторе ERBA XL-640 работы набора Лактатдегидрогеназа LIQUID - определение каталитической активности лактатдегидрогеназы (y) и коммерчески доступного теста (x) с использованием 48 образцов дало следующие результаты:

Линейная регрессия:
 $y = 0,953x - 9,43 \text{ Ед/л}$ $r = 0,985$
Регрессия по Пассингу-Баблоку¹¹:
 $y = 0,961x - 5,75 \text{ Ед/л}$ $r = 0,958$

Интерферирующие вещества

Критерий: восстановление в пределах ± 10 % от исходного значения активности ЛДГ в пробе без интерферирующих веществ.

Следующие вещества не оказывают влияния: гемоглобин до 1 г/л, билирубин до 40 мг/дл, триглицериды до 850 мг/дл. Значительный гемолиз может увеличить концентрацию ЛДГ из-за высокого уровня ЛДГ в эритроцитах.

Лекарственные препараты: использование обычных лекарственных препаратов в терапевтических концентрациях, не оказывает влияния на результаты исследования¹².

Ограничения метода

- Ухудшение качества реагентов (например, в результате превышения температуры хранения) может привести к неверным результатам. Минимальная допустимая поглощающая способность холостой пробы при 340 нм по отношению к дистиллированной воде составляет 0,8.
- Высокая концентрация гемоглобина, билирубина и триглицеридов в образце может повлиять на определение ЛДГ. См. раздел «Интерферирующие вещества».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для диагностического использования *in vitro* уполномоченным и профессионально подготовленным специалистом. О любых серьезных инцидентах, связанных с использованием изделия, следует сообщать производителю.

Идентификация опасностей в соответствии с Регламентом (ЕС) № 1272/2008

R1, R2

Реагенты из набора не классифицируются как опасные.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с местными правилами.

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
BLT00037	Лактатдегидрогеназа LIQUID - определение каталитической активности лактатдегидрогеназы	ФСЗ 2010/07334	от 13.05.2019



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erba.com

СС/IFU/019/26/A

Дата проведения контроля: 9. 4. 2026

LACTATOHIDROGENASA-P

No. de cat.	Nombre del paquete	Embalaje (contenido)
BLT00037	LDH 100	R1: 4 × 20 ml, R2: 1 × 20 ml instrucciones de uso



USO PREVISTO

El kit está destinado a la determinación cuantitativa fotométrica *in vitro* de la lactato deshidrogenasa en suero y plasma humanos en diversos sistemas automáticos. En combinación con otros parámetros, está destinado a la detección, monitoreo y diagnóstico de enfermedades hepáticas, infarto de miocardio, daño renal, anemias. Sólo para uso profesional en laboratorios clínicos.

IMPORTANCIA CLÍNICA

La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima formada por cinco isoenzimas diferentes que catalizan la interconversión de L-lactato y piruvato. La LDH está presente en el citoplasma de todos los tejidos humanos, con concentraciones más elevadas en el hígado, el corazón y el músculo esquelético, y valores más bajos en los eritrocitos, el páncreas, el riñón y el estómago. Se han observado niveles séricos elevados de LDH en diversos estados patológicos. Los niveles más altos se observan en pacientes con anemia megaloblástica, carcinoma diseminado y shock. Se producen aumentos moderados en los trastornos musculares, el síndrome nefrótico y la cirrosis. Se han notificado aumentos leves de la actividad de la LDH en casos de infarto de miocardio o pulmonar, leucemia, anemia hemolítica y hepatitis no vírica.

PRINCIPIO

Este ensayo sigue las recomendaciones de la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC)^{1,2}. La LDH cataliza la reacción entre el piruvato y el NADH para formar L-lactato y NAD⁺.



La tasa de oxidación de NADH es proporcional a la actividad de LDH presente en la muestra y la disminución de la absorbancia puede medirse cinéticamente a 340 nm.

DESCRIPCIÓN Y COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

R1	R2	
Tampón Tris (pH 7,5)	100 mmol/l	NADH
Piruvato	2,0 mmol/l	1,66 mmol/l

COMPOSICIÓN DE LA MEZCLA DE REACCIÓN

Tampón Tris (pH 7,5)	78 mmol/l
Piruvato	1,6 mmol/l
NADH	0,33 mmol/l

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos líquidos, listo para usar. Para el método monoreactivo, prepare el reactivo de trabajo mezclando 4 porciones de reactivo R1 con 1 porción de reactivo R2.

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL APARATO

Puede utilizarse cualquier instrumento con control de temperatura de 37 ± 0,5 °C que sea capaz de leer la absorbancia a 340 nm, equipo general de laboratorio.

XL MULTICAL 4×3, No. de cat. XSYS0034
XL MULTICAL 10×3, No. de cat. XSYS0122
ERBA NORM 4×5, No. de cat. BLT00080
ERBA NORM 10×5, No. de cat. XSYS0123
ERBA PATH 4×5, No. de cat. BLT00081
ERBA PATH 10×5, No. de cat. XSYS0124

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Los reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el frasco y en la etiqueta del kit cuando se almacenan a 2–8 °C.

Método de dos reactivos – inicio de sustrato

Los reactivos están listos para su uso. Después de abrir, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad a 2–8 °C si se almacena en condiciones adecuadas, cerrado cuidadosamente, protegido de la luz y sin ninguna contaminación.

Método de Monoreactivo – inicio de la muestra

Estabilidad del reactivo de trabajo: 24 horas a 15–25 °C en la oscuridad
5 días a 2–8 °C en la oscuridad

RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se recomienda seguir la norma ISO 15189 y las instrucciones de laboratorio. Para la recogida y preparación de muestras, utilice únicamente tubos o recipientes de recogida adecuados. Solo los especímenes enumerados a continuación fueron probados y considerados aceptables.

Suero (libre de hemólisis).

Plasma: Plasma Li-heparina (libre de hemólisis).

El plasma puede estar contaminado con plaquetas que contienen altas concentraciones de lactato deshidrogenasa y deben evitarse^{7,8}.

Los tipos de muestras enumerados se probaron con una selección de tubos de recogida de muestras que estaban disponibles comercialmente en el momento del análisis, es decir, no se probaron todos los tubos disponibles de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de distintos fabricantes pueden contener materiales diferentes que podrían afectar a los resultados de las pruebas en algunos casos. Cuando procese muestras en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), siga las instrucciones del fabricante del tubo. Centrifugue las muestras que contengan precipitados antes de realizar el ensayo. Consulte la sección de Limitantes e Interferencias para obtener detalles sobre posibles interferencias de muestra.

Estabilidad en suero / plasma ^a :	7 días a	15–25 °C
	4 días a	2–8 °C
	6 semanas a	-20 °C

En relación con determinadas enfermedades (por ejemplo, hepatopatías, enfermedades del músculo esquelético, tumores malignos), las porciones de las isoenzimas LDH-4 y LDH-5 aumentan y son inestables en las muestras enfriadas y congeladas; esto puede dar lugar a un valor incorrecto de LDH en las muestras recogidas de pacientes que padecen dichas enfermedades. Deseche las muestras contaminadas.

CALIBRACIÓN

Se recomienda calibrar con el calibrador XL MULTICAL. Calibración de 2 puntos (blanco y calibrador); se recomienda agua destilada como blanco. Frecuencia de calibración: se recomienda realizar una calibración
• después del cambio de lote de reactivos
• según requieran los procedimientos internos de control de calidad

CONTROL DE CALIDAD

Para el control de calidad se recomiendan ERBA NORM y ERBA PATH. Los intervalos y límites de control deben adaptarse en función de las necesidades de cada laboratorio. Los valores obtenidos deben estar dentro de los intervalos definidos. Cada laboratorio debe establecer las medidas correctoras que deben adoptarse si los valores se sitúan fuera de los límites definidos.

TRAZABILIDAD

Este método, el calibrador XL MULTICAL y los controles ERBA NORM y ERBA PATH se han estandarizado según el método recomendado por la DGKC^{1,2}.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Longitud de onda: 340 nm
Cubeta: 1 cm

Método de dos reactivos – inicio de sustrato

	Blanco de Reactivo	Calibrador	Muestra
Reactivo 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Muestra	–	–	0,020 ml
Calibrador	–	0,020 ml	–
Agua destilada	0,020 ml	–	–

Mezcle y después de 1 min. de incubación (a 37 °C) añada:

Reactivo 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
------------	----------	----------	----------

Mezcle, incube 1 min. a 37 °C y, a continuación, mida la absorbancia inicial del calibrador y de la muestra frente al blanco de reactivo. Mida el cambio de absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 min. Calcule el cambio de absorbancia en 1 minuto (ΔA/min).

Método de Monoreactivo – inicio de la muestra

	Blanco de Reactivo	Calibrador	Muestra
Reactivo de trabajo	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Muestra	–	–	0,020 ml
Calibrador	–	0,020 ml	–
Agua destilada	0,020 ml	–	–

Mezcle, incube 1 min. a 37 °C y, a continuación, mida la absorbancia inicial del calibrador y de la muestra frente al blanco de reactivo. Mida el cambio de absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 min. Calcule el cambio de absorbancia en 1 minuto (ΔA/min).

CÁLCULO

- LDH (U/L) = $\frac{\Delta A_{\text{sam}}/\text{min.}}{\Delta A_{\text{cal}}/\text{min.}} \times C_{\text{cal}}$ C_{cal} = calibrator concentration
- Usando el factor (f):
LDH (U/L) = f × ΔA/min $f = 8095$ (a 340 nm)

PARÁMETROS DE ENSAYO PARA FOTOMETROS

Modo	Cinética	Dirección de la reacción	Disminución de
Longitud de onda (nm)	340	Normal Baja U/L	230
Volumen de muestra (μl)	10/20	Normal Alta U/L	460
Volumen de reactivo de trabajo (μl)	500/1000	Linealidad Baja U/L	30,3
Tiempo de retraso (seg.)	60	Linealidad Alta U/L	2320
Intervalo cinético (seg.)	60	En blanco con	Agua
Número de lecturas	3	Límite de absorbancia (mínimo)	0,8
Factor cinético	8095	Unidades	U/L
Temperatura (°C) de la reacción	37		

CONVERSIÓN DE UNIDADES

U/l × 0,0167 = μkat/l

VALORES ESPERADOS¹⁰

A 37 °C 230–460 U/L

Doporučuje se, aby si každá laboratorf ověřila rozsah referenčního intervalu pro populaci, pro kterou zajišťuje laboratorní vyšetření.

DESEMPEÑO ANALÍTICO

Los datos dentro de esta sección son representativos del desempeño en Sistema automático ERBA XL-640. Los datos obtenidos en su laboratorio pueden diferir de estos valores.

Límite de cuantificación: 30,3 U/L

El límite de cuantificación representa el nivel de analito medible más bajo. Se calcula como la actividad determinada de la muestra diluida para tener un CV <20 % (n = 30).

Linealidad: 2320 U/L

La linealidad es la actividad medida más alta con una recuperación dentro del ±10 % del valor teórico.

Precisión:

La precisión se determinó mediante el uso de controles en un protocolo interno con repetibilidad (n = 20) y precisión intermedia (2 alícuotas por ejecución, 2 corridas por día, 20 días). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Repetibilidad	Media (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Muestra 1	343,9	3,81	1,11
Muestra 2	679,1	8,00	1,18

Precisión intermedia	Media (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Muestra 1	342,2	6,50	1,90
Muestra 2	675,4	11,61	1,72

Exactitud

Se utilizaron dos materiales de control validados diferentes. El sesgo determinado es de -7,6 % en el valor objetivo 495,0 U/L y de 10,3 % en el valor objetivo 840,9 U/L.

Comparación

Una comparación entre el sistema automático XL-640 LDH (y) una prueba disponible comercialmente (x) usando 48 muestras dio los siguientes resultados:

Regresión lineal:
y = 0,953x - 9,43 U/L $r = 0,985$
Passing-Bablok¹¹:
y = 0,961x - 5,75 U/L $r = 0,958$

Interferencias

Criterio: Recuperación dentro del ±10 % del valor inicial de la actividad LDH en la muestra sin sustancia interferente. Las siguientes sustancias no interfieren: hemoglobina hasta 1 g/l, bilirrubina hasta 40 mg/dl, triglicéridos hasta 850 mg/dl. Una hemólisis significativa puede aumentar la concentración de LDH debido a los altos niveles de LDH en los eritrocitos.

Fármacos: No se encontraron interferencias a concentraciones terapéuticas utilizando paneles de fármacos comunes¹².

Limitantes:

- Los reactivos deteriorados (por ejemplo, si se supera la temperatura de almacenamiento) pueden dar resultados incorrectos. La absorbancia mínima admisible del reactivo en blanco medida a 340 nm frente al agua destilada es de 0,8.
- Una concentración elevada de hemoglobina, bilirrubina y triglicéridos en la muestra puede interferir en la determinación de la LDH. Véase el apartado Interferencias.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso de diagnóstico *in vitro*. Para ser manejado por persona titulada y educada profesionalmente. Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto deberá comunicarse al fabricante y deberá notificarse a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Identificación de peligros de acuerdo con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008

R1, R2

Los reactivos del kit no están clasificados como peligrosos.

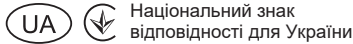
MANEJO DE RESIDUOS

Consulte los requisitos legales locales.



ЛАКТЕТДЕГІДРОГЕНАЗА-Р

Кат. №	Назва набору	Комплектація (вміст)
BLT00037	ЛДГ 100	R1: 4 × 20 мл, R2: 1 × 20 мл інструкція із застосування



ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для *in vitro* фотометричного кількісного визначення лактатдегідрогенази в сироватці та плазмі крові людини на різних автоматичних системах. У поєднанні з іншими параметрами використовується для скринінгу, моніторингу та діагностики захворювань печінки, інфаркту міокарда, ураження нирок та анемії. Тільки для професійного використання у клінічних лабораторіях.

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) є ферментом, що складається з п'яти різних ізоензимів, які каталізують взаємне перетворення L-лактату та пірувату. ЛДГ присутня в цитоплазмі всіх клітин організму людини, зокрема у тканинах із високим вмістом лактатдегідрогенази, таких як печінка, серце та скелетні м'язи, а також у нижчих концентраціях — в еритроцитах, підшлунковій залозі, нирках і шлунку. Підвищені рівні ЛДГ спостерігаються при різних патологічних станах. Найвищі значення відзначаються у пацієнтів із мегалобластною анемією, дисемінованими карциномами та шоком. Помірні підвищення спостерігаються при м'язових захворюваннях, нефротичному синдромі та цирозі. Незначні підвищення активності ЛДГ описані у випадках інфаркту міокарда або легень, лейкемії, гемолітичної анемії та неврального гепатиту.

ПРИНЦИП

Аналіз виконується відповідно до рекомендацій Німецького товариства клінічної хімії (DGKC)^{1,2}. ЛДГ каталізує реакцію між піруватом та NADH утворенням L-лактату та NAD⁺.



Швидкість окиснення NADH пропорційна активності ЛДГ у зразку, а зменшення абсорбції може бути виміряне кінетично при довжині хвилі 340 нанометрів.

ОПИС ТА СКЛАД РЕАГЕНТІВ

R1	R2
Трис-буфер (pH 7,5)	NADH
Піруват	1,66 ммоль/л

СКЛАД РЕАКЦІЙНОЇ СУМІШІ

Трис-буфер (pH 7,5)	78 ммоль/л
Піруват	1,6 ммоль/л
NADH	0,33 ммоль/л

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Реагенти знаходяться у рідкій формі, готові до використання. Для однореагентного методу робочий реагент готують шляхом змішування чотирьох частин реагенту R1 з однією частиною реагенту R2.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ (НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ)

Будь-який прилад із можливістю контролю температури 37,0 ± 0,5 °C, здатний вимірювати абсорбцію при довжині хвилі 340 нанометрів, а також загальнолабораторне обладнання.
XL МУЛЬТИКАЛІБРАТОР 4×3, Кат. № XSYS0034
XL МУЛЬТИКАЛІБРАТОР 10×3, Кат. № XSYS0122
ЕРБА НОРМ 4×5, Кат. № BLT00080
ЕРБА НОРМ 10×5, Кат. № XSYS0123
ЕРБА ПАТ 4×5, Кат. № BLT00081
ЕРБА ПАТ 10×5, Кат. № XSYS0124

СТАБІЛЬНІСТЬ ТА УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Нерозкриті реагенти залишаються стабільними до закінчення терміну придатності, зазначеного на флаконі та етикетці набору, за умови зберігання при температурі 2–8 °C. Двореагентний метод – старт за субстратом

Реагенти готові до використання. Після відкриття реагенти залишаються стабільними до закінчення терміну придатності при 2–8 °C за умови належного зберігання, щільного закриття, захисту від світла та відсутності будь-якого забруднення.

Однореагентний метод – старт за зразком

Стабільність робочого реагенту: 24 години при 15–25 °C у темряві
5 днів при 2–8 °C у темряві

ЗБІР ТА ОБРОБКА ЗРАЗКІВ

Рекомендується дотримуватись стандарту ISO 15189 та інструкцій лабораторії. Для збору та підготовки зразків слід використовувати лише відповідні пробірки або контейнери. Допустимі зразки:

Сироватка (без гемолізу).
Плазма: Li-гепаринова плазма (без гемолізу).
Плазма може бути контамінована тромбоцитами, які містять велику кількість LDH, тому їх слід уникати.⁸

Типи зразків, зазначені вище, були протестовані з використанням пробірок для збору зразків, що були комерційно доступні на момент тестування; не всі наявні пробірки всіх виробників були протестовані. Системи збору зразків різних виробників можуть містити матеріали, які в окремих випадках впливають на результати тестування. Під час обробки зразків у первинних пробірках слід дотримуватись інструкцій виробника пробірок.

Перед виконанням аналізу центрифугувати зразки, що містять осадки.
Для детальної інформації щодо можливих інтерференцій див. розділ «Обмеження та фактори, що впливають на результат».

Стабільність зразків у сироватці / плазмі ⁹ :	7 днів при 15–25 °C	4 дні при 2–8 °C	6 тижнів при -20 °C
--	---------------------	------------------	---------------------

У зв'язку з певними захворюваннями (наприклад, гепатопатіями, захворюваннями скелетних м'язів, злоякісними пухлинами) ізоферменти лактатдегідрогенази четвертого та п'ятого типу є підвищеними та нестабільними в охолоджених і заморожених зразках; це може призводити до некоректних значень лактатдегідрогенази у зразках, відібраних у пацієнтів із такими захворюваннями.
Забруднені зразки слід утилізувати.

КАЛІБРУВАННЯ

Рекомендується виконувати калібрування з використанням калібратора XL МУЛЬТИКАЛІБРАТОР. Двоточкове калібрування (порожній зразок і калібратор); як порожній зразок рекомендується використовувати дистильовану воду. Рекомендується виконувати калібрування:

- після зміни партії реагентів
- відповідно до вимог внутрішніх процедур контролю якості

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю якості рекомендується використовувати ЕРБА НОРМ та ЕРБА ПАТ. Інтервали та межі контролю повинні бути адаптовані відповідно до вимог кожної окремої лабораторії. Отримані значення повинні знаходитися в межах встановлених інтервалів. Кожна лабораторія повинна визначити коригувальні заходи у разі виходу значень за межі допустимих інтервалів.

ПРОСТЕЖУВАНІСТЬ

Цей метод, XL МУЛЬТИКАЛІБРАТОР та контрольні матеріали ЕРБА НОРМ і ЕРБА ПАТ були стандартизовані відповідно до рекомендованого методу Німецького товариства клінічної хімії^{1,2}.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Довжина хвилі: 340 нм
Кювета: 1 см

Двореагентний метод – старт за субстратом

	Реагент бланк	Калібратор	Зразок
Реагент 1	0,800 мл	0,800 мл	0,800 мл
Зразок	–	–	0,020 мл
Калібратор	–	0,020 мл	–
Дистильована вода	0,020 мл	–	–

Змішати та після 1 хв інкубації (при 37 °C) додати:

Реагент 2	0,200 мл	0,200 мл	0,200 мл
-----------	----------	----------	----------

Змішати, інкубувати 1 хв при 37 °C, після чого виміряти початкову абсорбцію калібратора та зразка відносно порожнього зразка. Виміряти зміну абсорбції точно через 1, 2 та 3 хв. Обчислити середню зміну абсорбції за 1 хвилину (ΔA/хв).

Однореагентний метод – старт за зразком

	Реагент бланк	Калібратор	Зразок
Робочий реагент	1,000 мл	1,000 мл	1,000 мл
Зразок	–	–	0,020 мл
Калібратор	–	0,020 мл	–
Дистильована вода	0,020 мл	–	–

Змішати, інкубувати 1 хв при 37 °C, після чого виміряти початкову абсорбцію калібратора та зразка відносно порожнього зразка. Виміряти зміну абсорбції точно через 1, 2 та 3 хв. Обчислити середню зміну абсорбції за 1 хвилину (ΔA/хв).

РОЗРАХУНОК

1. ЛДГ (Од/л) = $\frac{\Delta A_{\text{зразк}} / \text{хв}}{\Delta A_{\text{калібратор}} / \text{хв}} \times C_{\text{калібратор}}$ $C_{\text{калібратор}}$ = концентрація калібратора
2. З використанням коефіцієнта (f):
ЛДГ (Од/л) = f × ΔA/min $f = 8095$ (при 340 нм)

ПАРАМЕТРИ АНАЛІЗУ ДЛЯ ФОТОМЕТРІВ

Режим	Кінетика	Напрямок реакції	Зменшення
Довжина хвилі (нм)	340	Норма нижня межа (Од/л)	230
Об'єм зразка (мкл)	10/20	Норма верхня межа (Од/л)	460
Об'єм робочого реагенту (мкл)	500/1000	Нижня межа лінійності (Од/л)	30,3
Час затримки (сек.)	60	Верхня межа лінійності (Од/л)	2320
Кінетичний інтервал (сек.)	60	Реагент бланк	Вода
Кількість зчитувань	3	Мінімальна межа абсорбції (хв.)	0,8
Фактор	8095	Одиниці	Од/л
Температура реакції (°C)	37		

ПЕРЕРАХУНОК ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ

Од/л × 0,0167 = мккат/л

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ¹⁰

При 37 °C 230–460 Од/л
Рекомендується, щоб кожна лабораторія перевіряла цей діапазон або визначала референтний інтервал для популяції, яку вона обслуговує.

АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Дані, наведені в цьому розділі, є репрезентативними для роботи на автоматичній системі ERBA XL-640. Результати, отримані у вашій лабораторії, можуть відрізнятися від наведених.

МЕЖА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ:

30,3 Од/л

Межа кількісного визначення представляє найнижчий рівень аналізу, який може бути виміряний. Вона обчислюється як визначена активність розведеного зразка з коефіцієнтом варіації CV <20 % (n = 30).

ЛІНІЙНІСТЬ:

2320 Од/л

Лінійність – найвища виміряна активність із відновленням у межах ±10 % від теоретичного значення.

ПРЕЦИЗИЙНІСТЬ:

Прецизійність визначали з використанням контрольних матеріалів за внутрішнім протоколом із повторністю (n = 20) та проміжною прецизійністю (2 алікоти за запуск, 2 запуски на день протягом 20 днів). Отримано такі результати:

Повторюваність	Середнє (Од/л)	SD (Од/л)	CV (%)	Проміжна прецизійність	Середнє (Од/л)	SD (Од/л)	CV (%)
Зразок 1	343,9	3,81	1,11	Зразок 1	342,2	6,50	1,90
Зразок 2	679,1	8,00	1,18	Зразок 2	675,4	11,61	1,72

ТОЧНІСТЬ

Було використано два різних валідованих контрольних матеріали. Визначене зміщення становить –7,6 % при цільовому значенні 495,0 Од/л та 10,3 % при цільовому значенні 840,9 Од/л.

ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ

Порівняння між автоматичною системою XL-640 ЛДГ (y) та комерційно доступним тестом (x) із використанням 48 зразків дало такі результати:

Лінійна регресія:
y = 0,953x - 9,43 Од/л $r = 0,985$
Passing-Bablok¹¹:
y = 0,961x - 5,75 Од/л $r = 0,958$

ФАКТОРИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА РЕЗУЛЬТАТ

Критерій: відновлення в межах ±10 % від початкового значення активності ЛДГ у зразку без інтерферуючої речовини.

Не впливають на результати: гемоглобін до 1 г/л, білірубін до 40 мг/дл, тригліцериди до 850 мг/дл. Значний гемоліз може підвищувати концентрацію ЛДГ у зв'язку з високим вмістом ЛДГ в еритроцитах. Лікарські засоби: інтерференції не виявлено при терапевтичних концентраціях із використанням стандартних панелей лікарських засобів¹².

ОБМЕЖЕННЯ:

- Пошкоджені реагенти (наприклад, у разі перевищення температури зберігання) можуть призводити до некоректних результатів. Мінімально допустиме значення абсорбції порожнього зразка реагенту, виміряне при 340 нм відносно дистильованої води, становить 0,8.
- Високі концентрації гемоглобіну, білірубину та тригліцеридів у зразку можуть впливати на визначення ЛДГ. Див. розділ «Фактори, що впливають на результат».

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Тільки для діагностичного використання *in vitro*. До роботи допускається лише кваліфікований та професійно підготовлений персонал. Будь-який серйозний інцидент, пов'язаний із пристроєм, має бути повідомлений виробнику та компетентному органу відповідної країни ЕС, де розташований користувач та/або пацієнт.

Ідентифікація загроз відповідно до Регламенту (ЄС) № 1272/2008

R1, R2

Реагенти набору не класифікуються як небезпечні.

УПРАВЛІННЯ ВІДХОДАМИ

Будь ласка, дотримуйтесь місцевих законодавчих вимог щодо утилізації.

UA Уповноважений представник в Україні:
ТОВ „ЕРБА ДІАГНОСТИК УКРАЇНА“
01042, Київ, вул. ЮННА ПАВЛА II, буд. 21, офіс 401
тел. +38-050-4483456
ukraine@erba.com

LACTATE DEHYDROGÉNASE-P

Cat. N°	Nom de l'emballage	Emballage (contenu)
BLT00037	LDH 100	R1 : 4 x 20 ml, R2 : 1 x 20 ml mode d'emploi



UTILISATION PRÉVUE

Le kit est destiné à la détermination quantitative photométrique *in vitro* de la lactate déshydrogénase dans le sérum et le plasma humains sur divers systèmes automatiques. En combinaison avec d'autres paramètres, il est destiné au dépistage, à la surveillance et au diagnostic des maladies du foie, de l'infarctus du myocarde, des lésions rénales et des anémies. Réservé à un usage professionnel en laboratoire clinique.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme composée de cinq isoenzymes différentes qui catalysent l'interconversion de L-lactate et du pyruvate. La LDH est présente dans le cytoplasme de tous les tissus humains, avec des concentrations plus élevées dans le foie, le cœur et les muscles squelettiques, et des valeurs plus faibles dans les érythrocytes, le pancréas, les reins et l'estomac. Des taux sériques élevés de LDH ont été observés dans divers états pathologiques. Les taux les plus élevés sont observés chez les patients atteints d'anémie mégalo-blastique, de carcinome disséminé et de choc. Des augmentations modérées sont observées en cas de troubles musculaires, de syndrome néphrotique et de cirrhose. De légères augmentations de l'activité de la LDH ont été rapportées dans des cas d'infarctus du myocarde ou du poumon, de leucémie, d'anémie hémolytique et d'hépatite non virale.

PRINCIPE

Ce dosage suit les recommandations de la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC)^{1,2}. La LDH catalyse la réaction entre le pyruvate et le NADH pour former du L-lactate et du NAD⁺.



Le taux d'oxydation du NADH est proportionnel à l'activité de la LDH présente dans l'échantillon et la diminution de l'absorbance peut être mesurée cinétiquement à 340 nm.

DESCRIPTION ET COMPOSITION DU RÉACTIF

R1	R2	
Tampon Tris (pH 7,5)	100 mmol/l	NADH 1,66 mmol/l
Pyruvate	2,0 mmol/l	

COMPOSITION DU MÉLANGE RÉACTIONNEL

Tampon Tris (pH 7,5)	78 mmol/l
Pyruvate	1,6 mmol/l
NADH	0,33 mmol/l

PRÉPARATION DU RÉACTIF

Les réactifs sont liquides, prêts à l'emploi. Pour la méthode monoréactive, préparer le réactif de travail en mélangeant 4 portions du réactif R1 avec 1 portion du réactif R2.

LE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC LE DISPOSITIF

Tout instrument dont la température est réglée à 37 ± 0,5 °C et qui est capable de lire l'absorbance à 340 nm peut être utilisé ; il s'agit d'un équipement de laboratoire général.

XL MULTICAL 4x3, Cat. N° XSYS0034
ERBA NORM 10x3, Cat. N° XSYS0122
ERBA NORM 4x5, Cat. N° BLT00080
ERBA NORM 10x5, Cat. N° XSYS0123
ERBA PATH 4x5, Cat. N° BLT00081
ERBA PATH 10x5, Cat. N° XSYS0124

STABILITÉ ET STOCKAGE

Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon et l'étiquette du kit lorsqu'ils sont conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Méthode des deux réactifs - début du substrat

Les réactifs sont prêts à l'emploi. Après ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption à 2-8 °C s'ils sont conservés dans des conditions appropriées, soigneusement fermés, à l'abri de la lumière et sans aucune contamination.

Méthode monoréactive - début de l'échantillon

Stabilité du réactif de travail : 24 heures à 15-25 °C dans l'obscurité
5 jours à 2-8 °C dans l'obscurité

COLLECTE ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

Il est recommandé de suivre la norme ISO 15189 et les instructions du laboratoire.

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, n'utilisez que des tubes ou des récipients de prélèvement appropriés.

Seuls les spécimens énumérés ci-dessous ont été testés et jugés acceptables.

Sérum (exempt d'hémolyse).

Plasma : Plasma Li-héparine (exempt d'hémolyse).

Le plasma peut être contaminé par des plaquettes qui contiennent des concentrations élevées de lactate déshydrogénase et doivent être évitées^{7,8}.

Les types d'échantillons énumérés ont été testés avec une sélection de tubes de prélèvement d'échantillons disponibles dans le commerce au moment du test, c'est-à-dire que tous les tubes disponibles de tous les fabricants n'ont pas été testés. Les systèmes de collecte d'échantillons des différents fabricants peuvent contenir des matériaux différents qui peuvent affecter les résultats des tests dans certains cas. Lors du traitement d'échantillons dans des tubes primaires (systèmes de collecte d'échantillons), il convient de suivre les instructions du fabricant du tube.

Centrifugez les échantillons contenant des précipités avant d'effectuer l'essai.

Consultez la section limitations et interférences pour plus de détails sur les interférences possibles entre les échantillons.

Stabilité dans le sérum / plasma⁹ : 7 jours à 15-25 °C
4 jours à 2-8 °C
6 semaines à -20 °C

Dans le cas de certaines maladies (par exemple hépatopathie, maladies des muscles squelettiques, tumeurs malignes), les portions des isoenzymes LDH-4 et LDH-5 sont augmentées et instables dans les échantillons refroidis et congelés, ce qui peut conduire à une valeur incorrecte de la LDH dans les échantillons prélevés sur des patients souffrant de ces maladies.

Jetez les échantillons contaminés.

ÉTALONNAGE

L'étalonnage avec le calibrateur XL MULTICAL est recommandé.

Étalonnage en 2 points (blanc et calibrateur) ; il est recommandé d'utiliser de l'eau distillée comme blanc.

Fréquence d'étalonnage : il est recommandé d'effectuer un étalonnage

- après changement de lot de réactifs
- conformément aux procédures internes de contrôle de la qualité

CONTRÔLE QUALITÉ

Pour le contrôle de la qualité, il est recommandé d'utiliser ERBA NORM et ERBA PATH. Les intervalles et les limites de contrôle doivent être adaptés aux exigences de chaque laboratoire. Les valeurs obtenues doivent se situer dans les intervalles définis. Chaque laboratoire doit établir les mesures correctives à prendre si les valeurs se situent en dehors des limites définies.

TRAÇABILITÉ

Cette méthode, le calibrateur XL MULTICAL et les contrôles ERBA NORM et ERBA PATH ont été normalisés selon la méthode recommandée par l'DGKC^{1,2}.

PROCÉDURE D'ESSAI

Longueur d'onde : 340 nm

Cuvette : 1 cm

Méthode des deux réactifs - début du substrat

	Blanc réactif	Calibrateur	Échantillon
Réactif 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Échantillon	-	-	0,020 ml
Calibrateur	-	0,020 ml	-
Eau distillée	0,020 ml	-	-

Mélangez et, après 1 minute d'incubation (à 37 °C), ajoutez :

Réactif 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
-----------	----------	----------	----------

Mélangez, incubez 1 minute à 37 °C, puis mesurez l'absorbance initiale du calibrateur et de l'échantillon par rapport au blanc de réactif. Mesurez la variation d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 minutes. Calculez la variation d'absorbance après 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

Méthode monoréactive - début de l'échantillon

	Blanc réactif	Calibrateur	Échantillon
Réactif de travail	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Échantillon	-	-	0,020 ml
Calibrateur	-	0,020 ml	-
Eau distillée	0,020 ml	-	-

Mélangez, incubez 1 minute à 37 °C, puis mesurez l'absorbance initiale du calibrateur et de l'échantillon par rapport au blanc de réactif. Mesurez la variation d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 minutes. Calculez la variation d'absorbance après 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCUL

$$1. \text{LDH (U/L)} = \frac{\Delta A_{\text{sam}}/\text{min.}}{\Delta A_{\text{cal}}/\text{min.}} \times C_{\text{cal}} \quad C_{\text{cal}} = \text{concentration du calibrateur}$$

$$2. \text{Facteur d'utilisation (f) :} \quad \text{LDH (U/L)} = f \times \Delta A/\text{min} \quad f = 8095 \text{ (à 340 nm)}$$

PARAMÈTRES D'ESSAI POUR LES PHOTOMÈTRES

Mode	Cinétique	Sens de la réaction	Réduit :
Longueur d'onde (nm)	340	Normal Faible U/L	230
Volumé de l'échantillon (µl)	10/20	Normal Élevé U/L	460
Volumé du réactif de travail (µl)	500/1000	Linéarité Faible U/L	30,3
Temps de trempage (Sec)	60	Linéarité Haute U/L	2320
Intervalle cinétique (sec.)	60	En blanc avec	Eau
Nombre de lectures	3	Limite d'absorbance (min.)	0,8
Facteur cinétique	8095	Unités	U/L
Température de réaction (°C)	37		

CONVERSION DE L'UNITÉ

U/L x 0,0167 = µkat/l

VALEURS ATTENDUES¹⁰

À 37 °C 230-460 U/L

Il est recommandé que chaque laboratoire vérifie cette fourchette ou dérive l'intervalle de référence pour la population qu'il dessert.

PERFORMANCE ANALYTIQUE

Les données contenues dans cette section sont représentatives des performances du système automatique ERBA XL-640. Les données obtenues dans votre laboratoire peuvent différer de ces valeurs.

Limite de quantification : 30,3 U/L

La limite de quantification représente le niveau le plus bas mesurable de l'analyse. Il est calculé comme l'activité déterminée de l'échantillon dilué pour avoir un CV < 20 % (n = 30).

Linéarité : 2320 U/L

La linéarité est l'activité mesurée la plus élevée avec une récupération à ± 10 % de la valeur théorique.

Précision :

La précision a été déterminée en utilisant des contrôles dans un protocole interne avec répétabilité (n = 20) et précision intermédiaire (2 aliquotes par cycle, 2 cycles par jour, 20 jours). Les résultats suivants ont été obtenus :

Répeatabilité	Moyenne (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Échantillon 1	5,73	0,063	1,11
Échantillon 2	11,32	0,133	1,18

Précision intermédiaire	Moyenne (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Échantillon 1	5,70	0,108	1,90
Échantillon 2	11,26	0,194	1,72

Exactitude

Deux matériaux de contrôle validés différents ont été utilisés. Le biais déterminé est de -7,6 % à la valeur cible de 495,0 U/L et de 10,3 % à la valeur cible de 840,9 U/L.

Comparaison

Une comparaison entre le système automatique XL-640 LDH (y) et un test disponible dans le commerce (x) utilisant 48 échantillons a donné les résultats suivants :

Régression linéaire : y = 0,953x - 9,43 U/L r = 0,985

Passing-Bablok¹¹ : y = 0,961x - 5,75 U/L r = 0,958

Interférences

Critère : Récupération à ± 10 % de la valeur initiale de l'activité LDH dans l'échantillon sans substance interférente. Les substances suivantes n'interfèrent pas : hémoglobine jusqu'à 1 g/l, bilirubine jusqu'à 40 mg/dl, triglycérides jusqu'à 850 mg/dl. Une hémolyse importante peut augmenter la concentration de LDH en raison des niveaux élevés de LDH dans les érythrocytes.

Médicaments : Aucune interférence n'a été constatée à des concentrations thérapeutiques en utilisant des panels de médicaments courants¹².

Limites :

- Des réactifs détériorés (par exemple en dépassant la température de stockage) peuvent donner des résultats incorrects. L'absorbance minimale admissible du blanc réactif mesurée à 340 nm par rapport à l'eau distillée est de 0,8.

- Une concentration élevée d'hémoglobine, de bilirubine et de triglycérides dans l'échantillon peut interférer avec la détermination de l'LDH. Consultez le paragraphe Interférences.

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

Pour le diagnostic *in vitro*. À traiter par une personne habilitée et professionnellement formée.

Tout incident grave lié au dispositif est signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Identification des dangers conformément au règlement (CE) n° 1272/2008

R1, R2

Les réactifs du kit ne sont pas classés comme dangereux.

GESTION DES DÉCHETS

Reportez-vous aux exigences légales locales.



LACTATO DESIDROGENASE-P

Nº de cat.	Nome da embalagem	Embalagem (conteúdo)
BLT00037	LDH 100	R1: 4 x 20 ml, R2: 1 x 20 ml instruções de utilização



UTILIZAÇÃO PREVISTA

O kit destina-se à determinação fotométrica quantitativa *in vitro* da lactato desidrogenase no soro e plasma humanos em vários sistemas automáticos. Em combinação com outros parâmetros, destina-se ao rastreio, monitorização e diagnóstico de doenças hepáticas, enfarte do miocárdio, danos renais e anemias. Apenas para utilização profissional em laboratórios clínicos.

SIGNIFICÂNCIA CLÍNICA

A lactato desidrogenase (LDH) é uma enzima constituída por cinco isoenzimas diferentes que catalisam a interconversão do L-lactato e do piruvato. A LDH está presente no citoplasma de todos os tecidos humanos, com concentrações mais elevadas no fígado, coração e músculo esquelético, e valores mais baixos nos eritrócitos, pâncreas, rins e estômago. Foram observados níveis séricos elevados de LDH numa variedade de estados patológicos. Os níveis mais elevados são observados em doentes com anemia megaloblástica, carcinoma disseminado e choque. Registam-se aumentos moderados em doenças musculares, síndrome nefrótica e cirrose. Foram notificados aumentos ligeiros da atividade da LDH em casos de enfarte do miocárdio ou pulmonar, leucemia, anemia hemolítica e hepatite não viral.

PRINCÍPIO

Este ensaio segue as recomendações da Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC)^{1,2}. A LDH catalisa a reação entre o piruvato e o NADH para formar L-lactato e NAD⁺.



A taxa de oxidação do NADH é proporcional à atividade da LDH presente na amostra e a diminuição da absorvância pode ser medida cineticamente a 340 nm.

DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO DO REAGENTE

R1	R2
Tampão Tris (pH 7,5)	100 mmol/l
Piruvato	2,0 mmol/l
	NADH
	1,66 mmol/l

COMPOSIÇÃO DA MISTURA DE REAÇÃO

Tampão Tris (pH 7,5)	78 mmol/l
Piruvato	1,6 mmol/l
NADH	0,33 mmol/l

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Os reagentes são líquidos, prontos a utilizar. Para o método monoreagente, prepare o reagente de trabalho misturando 4 porções do reagente R1 com 1 porção do reagente R2.

MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO COM O DISPOSITIVO

Pode ser utilizado qualquer instrumento com controlo de temperatura de 37 ± 0,5 °C capaz de ler a absorvância a 340 nm, equipamento geral de laboratório.
 XL MULTICAL 4x3, Nº de cat. XSYS0034
 XL MULTICAL 10x3, Nº de cat. XSYS0122
 ERBA NORM 4x5, Nº de cat. BLT00080
 ERBA NORM 10x5, Nº de cat. XSYS0123
 ERBA PATH 4x5, Nº de cat. BLT00081
 ERBA PATH 10x5, Nº de cat. XSYS0124

ESTABILIDADE E CONSERVAÇÃO

Os reagentes não abertos são estáveis até à data de validade indicada no frasco e no rótulo do kit quando armazenados a 2-8 °C.

Método dos dois reagentes - início do substrato

Os reagentes estão prontos a utilizar. Depois de abertos, os reagentes são estáveis até à data de validade a 2-8 °C se forem armazenados em condições adequadas, cuidadosamente fechados, protegidos da luz e sem qualquer contaminação.

Método monoreagente - início da amostra

Estabilidade do reagente de trabalho: 24 horas a 15-25 °C no escuro
 5 dias a 2-8 °C no escuro

COLHEITA E MANUSEAMENTO DE ESPÉCIMES

Recomenda-se o cumprimento da norma ISO 15189 e das instruções do laboratório. Para a colheita e preparação de amostras, utilize apenas tubos ou recipientes de colheita adequados. Apenas os espécimes enumerados abaixo foram testados e considerados aceitáveis.

Soro (isento de hemólise).

Plasma: Plasma de li-heparina (isento de hemólise).

O plasma pode estar contaminado com plaquetas que contêm concentrações elevadas de lactato desidrogenase e deve ser evitado³.

Os tipos de amostras enumerados foram testados com uma seleção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura dos testes, ou seja, não foram testados todos os tubos disponíveis de todos os fabricantes. Os sistemas de recolha de amostras de vários fabricantes podem conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afetar os resultados do teste. Ao processar amostras em tubos primários (sistemas de recolha de amostras), siga as instruções do fabricante do tubo.

Centrifugue as amostras que contenham precipitados antes de efetuar o ensaio.

Consulte a secção Limitações e Interferências para mais informações sobre possíveis interferências nas amostras.

Estabilidade no soro / plasma⁴:

7 dias a 15-25 °C
 4 dias a 2-8 °C
 6 semanas a -20 °C

Em relação a certas doenças (por exemplo, hepatopatias, doenças do músculo esquelético, tumores malignos), as porções das isoenzimas LDH-4 e LDH-5 estão aumentadas e instáveis em amostras arrefecidas e congeladas, o que pode levar a um valor incorreto de LDH em amostras colhidas de pacientes que sofrem dessas doenças.

Elimine as amostras contaminadas.

CALIBRAÇÃO

Recomenda-se a calibração com o calibrador XL MULTICAL.

Calibração de 2 pontos (branco e calibrador); recomenda-se água destilada como branco

Frequência de calibração: recomenda-se a realização de uma calibração

- após mudança de lote de reagente
- conforme exigido pelos procedimentos internos de controlo da qualidade

CONTROLO DA QUALIDADE

Para o controlo da qualidade, recomenda-se a utilização do ERBA NORM e do ERBA PATH. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados de acordo com os requisitos de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos intervalos definidos. Cada laboratório deve estabelecer medidas corretivas se os valores se situarem fora dos limites definidos.

RASTREABILIDADE

Este método, o calibrador XL MULTICAL e os controlos ERBA NORM e ERBA PATH foram normalizados de acordo com o método recomendado pela DGKC^{1,2}.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Comprimento de onda: 340 nm

Cuvete: 1 cm

Método dos dois reagentes - início do substrato

	Reagente em branco	Calibrador	Amostra
Reagente 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Amostra	–	–	0,020 ml
Calibrador	–	0,020 ml	–
Água destilada	0,020 ml	–	–

Misturar e, após 1 minuto de incubação (a 37 °C), adicione:

Reagente 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
------------	----------	----------	----------

Misture, incube por 1 minuto a 37 °C e, em seguida, meça a absorvância inicial do calibrador e da amostra em relação ao branco do reagente. Meça a variação da absorvância exatamente após 1, 2 e 3 minutos. Calcule-se a variação da absorvância ao longo de 1 minuto ($\Delta A/\text{min}$).

Método monoreagente - início da amostra

	Reagente em branco	Calibrador	Amostra
Reagente de trabalho	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Amostra	–	–	0,020 ml
Calibrador	–	0,020 ml	–
Água destilada	0,020 ml	–	–

Misture, incube por 1 minuto a 37 °C e, em seguida, meça a absorvância inicial do calibrador e da amostra em relação ao branco do reagente. Meça a variação da absorvância exatamente após 1, 2 e 3 minutos. Calcule-se a variação da absorvância ao longo de 1 minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULO

$$1. \text{LDH (U/L)} = \frac{\Delta A_{\text{sam}}/\text{min}}{\Delta A_{\text{cal}}/\text{min}} \times C_{\text{cal}} \quad C_{\text{cal}} = \text{concentração do calibrador}$$

$$2. \text{Fator de utilização} \quad \text{LDH (U/L)} = f \times \Delta A/\text{min} \quad f = 8095 \text{ (a 340 nm)}$$

PARÂMETROS DE ENSAIO PARA FOTÓMETROS

Modo	Cinética	Direção da reação	Diminuição
Comprimento de onda (nm)	340	Normal Baixo U/L	230
Volume da amostra (µl)	10/20	Normal Alto (g/dl)	460
Volume do reagente de trabalho (µl)	500/1000	Linearidade Baixa U/L	30,3
Tempo de atraso (s)	60	Linearidade Alta U/L	2320
Intervalo cinético (s)	60	Em branco com	Água
N.º de leituras	3	Limite de absorvância (min.)	0,8
Fator cinético	8095	Unidades	U/L
Temperatura de reação (°C)	37		

CONVERSÃO DE UNIDADES

U/l x 0,0167 = µkat/l

VALORES ESPERADOS¹⁰

A 37 °C 230-460 U/L

Recomenda-se que cada laboratório verifique este intervalo ou obtenha um intervalo de referência para a população que serve.

DESEMPENHO ANALÍTICO

Os dados contidos nesta secção são representativos do desempenho do sistema automático ERBA XL-640. Os dados obtidos no seu laboratório podem diferir destes valores.

Limite de quantificação: 30,3 U/L

O limite de quantificação representa o nível mais baixo mensurável da substância a analisar. É calculada como a atividade determinada da amostra diluída para ter um CV <20 % (n = 30).

Linearidade: 2320 U/L

A linearidade é a atividade medida mais elevada com recuperação dentro de ±10 % do valor teórico.

Precisão:

A precisão foi determinada utilizando controlos num protocolo interno com repetibilidade (n = 20) e precisão intermédia (2 alíquotas por análise, 2 análises por dia, 20 dias). Foram obtidos os seguintes resultados:

Repetibilidade	Média (U/L)	SD (U/L)	CV (%)	Precisão intermédia	Média (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Amostra 1	343,9	3,81	1,11	Amostra 1	342,2	6,50	1,90
Amostra 2	679,1	8,00	1,18	Amostra 2	675,4	11,61	1,72

Exatidão

Foram utilizados dois materiais de controlo validados diferentes. O envasamento determinado é de -7,6 % no valor-alvo de 495,0 U/L e de 10,3 % no valor-alvo de 840,9 U/L.

Comparação

Uma comparação entre o sistema automático XL-640 LDH (y) e um teste disponível no mercado (x) utilizando 48 amostras apresentou os seguintes resultados:

Regressão linear:

$$y = 0,953x - 9,43 \text{ U/L} \quad r = 0,985$$

Passing-Bablok¹¹:

$$y = 0,961x - 5,75 \text{ U/L} \quad r = 0,958$$

Interferências

Critério: Recuperação com um intervalo de ±10 % do valor inicial da atividade da LDH na amostra sem substância interferente. As seguintes substâncias não interferem: hemoglobina até 1 g/l, bilirrubina até 40 mg/dl, triglicéridos até 850 mg/dl. Uma hemólise significativa pode aumentar a concentração de LDH devido aos elevados níveis de LDH nos eritrócitos.

Medicamentos: Não foram encontradas interferências em concentrações terapêuticas utilizando painéis de medicamentos comuns¹².

Limitações:

- Reagentes deteriorados (por exemplo, excedendo a temperatura de conservação) podem apresentar resultados incorretos. A absorvância mínima admissível do reagente em branco, medida a 340 nm em relação à água destilada, é de 0,8.
- Uma concentração elevada de hemoglobina, bilirrubina e triglicéridos na amostra pode interferir com a determinação da LDH. Consulte o ponto Interferências.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. A manusear por uma pessoa habilitada e com formação profissional. Qualquer incidente grave relacionado com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o doente está estabelecido.

Identificação dos perigos de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1272/2008

R1, R2

Os reagentes do kit não são classificados como perigosos.

GESTÃO DE RESÍDUOS









Consulte os requisitos legais locais.



REFERENCES / LITERATURA / ЛИТЕРАТУРА / REFERENCIAS / ЛІТЕРАТУРА / RÉFÉRENCES / REFERÊNCIAS

1. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Z klin Chem u klin Biochem 1970;8:658-659.
2. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Z klin Chem u klin Biochem 1972;10:182-190.
3. Henry, R.J., Chiamori N., Golub O.J., and Berkman S., Am.J. Clin. Path. 34(341), 1960.
4. Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1987;346-421.
5. Zimmerman HJ, Henry JB In: Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 17th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1984;251-282.
6. Dito WR. Lactate dehydrogenase: A brief review. In: Griffiths JC, ed. Clinical Enzymology. New York: Masson Publishing USA 1979:1-8.
7. Bais R, Philcox M. Approved recommendations of IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32(8):639-655.
8. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Pa: WB Saunders Co 1999;669.
9. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2: Jan 2002.
10. Pesce A. Lactate dehydrogenase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1124-117, 438.
11. Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.
12. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385

**USED SYMBOLS / POUŽITÉ SYMBOLY / УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ / SÍMBOLOS UTILIZADOS
 ВИКОРИСТАНІ ПОЗНАЧКИ / SYMBOLES UTILISÉS / SÍMBOLOS USADOS**

 <p>Catalogue number Katalogové číslo Номер по каталогу Número de catálogo Каталожний номер Numéro de catalogue Número de catálogo</p>	 <p>Lot number Číslo šarže Код партии Número de lote Номер партії Numéro de lot Número de lote</p>	 <p>Expiry date Datum expirace Использовать до Fecha de caducidad Термін придатності Date d'expiration Data de validade</p>	 <p><i>In vitro</i> diagnostic medical device Diagnostický zdravotnícký prostriedek <i>in vitro</i> Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i> Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> диагностика Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> Diagnóstico <i>in vitro</i></p>
 <p>Consult instructions for use Čtěte návod k použití Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде Consulte las instrucciones de uso Перед використанням уважно вивчіть інструкцію Consulter la notice d'utilisation Veja as instruções de uso</p>	 <p>Manufacturer Výrobce Изготовитель Fabricante Виробник Fabricant Fabricante</p>	 <p>Temperature limit Omezení teploty Температурный диапазон Limite de temperatura Температура зберігання Limites de température Temperatura de armazenamento</p>	 <p>Content Obsah Содержание Contenido Вміст Contenu Conteúdo</p>

 eIFU:
www.erba.com

LACTATEDEHYDROGENASE-P

Kat. č.	Názov	Balenie
BLT00037	LDH 100	R1: 4 × 20 ml, R2: 1 × 20 ml návod na použitie



ÚČEL POUŽITIA

Diagnostická súprava na kvantitatívne *in vitro* stanovenie laktátdehydrogenázy v ľudskom sére a plazme na rôznych automatických systémoch. V kombinácii s ďalšími parametrami je určená na screening, monitorovanie a diagnostiku chorôb pečene, infarktu myokardu, poškodenia ľadvín a anémie. Iba na odborné použitie v klinických laboratóriách.

KLINICKÝ VÝZNAM

Laktátdehydrogenáza (LDH) je enzým zahrňujúci päť rôznych izoenzýmov, ktoré katalyzujú konverziu L-laktátu na pyruvát. LDH je prítomná v cytoplazme všetkých ľudských tkanív s vyššími koncentraciami v pečeni, srdci a kostrovom svalstve a v menších množstvách v erytrocytoch, pankrease, obličkách a žalúdku.

Zvýšené hodnoty v sére je možné pozorovať pri rôznych ochoreniach. Najvyššie hladiny sú identifikované u pacientov s megaloblastickou anémiou, diseminovaným karcinómom a šokom. Stredne zvýšené sú pri svalových ochoreniach, nefrotickom syndróme a cirhóze. Mierny zvýšenie aktivity LDH bolo zaznamenané v prípadoch srdcového alebo pľúcneho infarktu, leukémie, hemolytickej anémie a nevrusovej hepatitídy.

PRINCÍP METÓDY

Metóda stanovenia je odvodená od odporúčaní Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC)^{1,2}. LDH katalyzuje reakciu medzi pyruvátom a NADH za tvorby L-laktátu a NAD⁺.



Rýchlosť oxidácie NADH je úmerná aktivite LDH vo vzorke a znižujúca absorbancia je meraná kineticky pri 340 nm.

ZLOŽENIE ČINIDIEL

R1		R2	
Tris pufer (pH 7,5)	100 mmol/l	NADH	1,66 mmol/l
Pyruvát	2,0 mmol/l		

ZLOŽENIE REAKČNEJ ZMESI

Tris pufer (pH 7,5)	78 mmol/l
Pyruvát	1,6 mmol/l
NADH	0,33 mmol/l

PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Činidlá sú kvapalné, pripravené na použitie. Pracovný roztok na monoreagenčnú metódu sa pripraví zmiešaním 4 dielov činidla R1 s 1 dielom činidla R2.

POTREBNÝ MATERIÁL, ALE NEDODÁVANÝ SO SÚPRAVOU

Analýzátor s reguláciou teploty 37 ± 0,5 °C, ktorý je schopný odčítať absorbanciu pri 340 nm, základné laboratórne vybavenie.

XL MULTICAL 4×3, kat. č. XSYS0034
XL MULTICAL 10×3, kat. č. XSYS0122
ERBA NORM 4×5, kat. č. BLT00080
ERBA NORM 10×5, kat. č. XSYS0123
ERBA PATH 4×5, kat. č. BLT00081
ERBA PATH 10×5, kat. č. XSYS0124

STABILITA A SKLADOVANIE

Neotvorené činidlá, skladované pri 2–8 °C, sú stabilné do doby expirácie vyznačenej na obale.

Dvojreagenčná metóda – štart substrátom

Činidlá sú pripravené na použitie. Po otvorení sú činidlá stabilné do doby expirácie, ak sú skladované pri 2–8 °C vo vhodných podmienkach, po použití riadne uzavreté a chránené pred svetlom a kontamináciou.

Jednoreagenčná metóda – štart vzorkou

Stabilita pracovného roztoku: 24 hodín pri 15–25 °C v tme
5 dní pri 2–8 °C v tme

ODBER VZORIEK A PRÍPRAVA

Odporúča sa dodržiavať ISO 15189 a laboratórne pokyny.

Na odber a prípravu vzoriek používajte iba vhodné skúmavky alebo odberové nádoby.

Iba nižšie uvedené vzorky boli testované a sú prijateľné:

Sérum (bez hemolýzy).

Plazma: Li-heparinizovaná plazma (bez hemolýzy). Plazma môže byť kontaminovaná krvnými doštičkami, ktoré obsahujú veľké množstvo LDH a treba sa im vyhnúť².

Uvedené druhy vzoriek boli testované s vybranými typmi odberových skúmaviek, ktoré boli komerčne dostupné v danej dobe, tzn. že do testu neboli zaradené všetky typy skúmaviek od všetkých výrobcov. Systémy odberu vzoriek rôznych výrobcov môžu obsahovať rôzne materiály, ktoré môžu mať v niektorých prípadoch zásadný vplyv na výsledky. Pri spracovaní vzoriek v primárnych skúmavkách (systémy odberu vzoriek) dodržujte pokyny ich výrobcov. Pred vykonaním testu oddelte zrazeniny vo vzorkách centrifugáciou. Podrobnosti o možných obmedzeniach nájdete v časti Interferencia.

Stabilita v sére / plazme²:

7 dní pri	15–25 °C
4 dní pri	2–8 °C
6 týždňov pri	-20 °C

V súvislosti s určitými chorobami (napr. hepatopatia, ochorenia kostrového svalstva, malígne nádory) sú izoenzýmy LDH-4 a LDH-5 zvýšené a nestabilné v schladených a zmrazených vzorkách; to môže viesť k nesprávnym hodnotám LDH vo vzorkách u pacientov trpiacich uvedenými ochoreniami. Nepoužívajte kontaminované vzorky.

KALIBRÁCIA

Na kalibráciu sa odporúča XL MULTICAL.

Dvojbodová kalibrácia (blank a kalibrátor); ako blank sa odporúča destilovaná voda.

Frekvencia kalibrácie: odporúča sa vykonávať kalibráciu:

- pri zmene šarže reagensí
- podľa požiadaviek interných postupov kontroly kvality

KONTROLA KVALITY

Na kontrolu kvality sa odporúča ERBA NORM a ERBA PATH.

Intervaly a limity kontrol by mali byť nastavené podľa požiadaviek každého jednotlivého laboratória. Získané hodnoty by mali spadať do definovaných intervalov. Každé laboratórium by malo stanoviť nápravné opatrenia, ak hodnoty prekročia definované rozmedzie.

NADVÁZNOŠŤ

Metóda, kalibrátor XL MULTICAL a kontroly ERBA NORM a PATH boli štandardizované podľa odporúčaní DGKC^{1,2}.

POSTUP MERANIA

Vínová dĺžka: 340 nm

Kyveta: 1 cm

Dvojreagenčná metóda – štart substrátom

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Kalibrátor
Činidlo 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Vzorka	–	–	–
Kalibrátor	–	0,020 ml	0,020 ml
Destilovaná voda	0,020 ml	–	–

Premieša sa a po 1 min. inkubácie (pri 37 °C) sa pridá:

Činidlo 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
-----------	----------	----------	----------

Premieša sa, inkubuje sa 1 minútu pri 37 °C a potom sa zmeria počiatočná absorbancia kalibrátora a vzorky oproti reagenčnému blanku. Meria sa zmena absorbancie presne po 1, 2 a 3 minútach. Vypočíta sa priemerná zmena absorbancie za 1 minútu ($\Delta A/\text{min}$).

Jednoreagenčná metóda – štart vzorkou

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Vzorka
Pracovný roztok	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Vzorka	–	–	0,020 ml
Kalibrátor	–	0,020 ml	–
Destilovaná voda	0,020 ml	–	–

Premieša sa, inkubuje sa 1 minútu pri 37 °C a potom sa zmeria počiatočná absorbancia kalibrátora a vzorky oproti reagenčnému blanku. Meria sa zmena absorbancie presne po 1, 2 a 3 minútach. Vypočíta sa priemerná zmena absorbancie za 1 minútu ($\Delta A/\text{min}$).

VÝPOČET

$$1. \text{LDH } (\mu\text{kat/l}) = \frac{\Delta A_{\text{vz}}/\text{min.}}{\Delta A_{\text{kal}}/\text{min.}} \times C_{\text{kal}} \quad C_{\text{kal}} = \text{hodnota v kalibrátore}$$

$$2. \text{ Použitie faktoru} \quad \text{LDH } (\mu\text{kat/l}) = f \times \Delta A/\text{min} \quad f = 134,9 \text{ (pri 340 nm)}$$

PARAMETRE MERANIA PRE FOTOMETRE

Režim	kinetický	Reakčný smer	klesajúci
Vínová dĺžka (nm)	340	Normálna dolná hodnota ($\mu\text{kat/l}$)	3,83
Objem vzorky (μl)	10/20	Normálna horná hodnota ($\mu\text{kat/l}$)	7,67
Objem pracovného roztoku (μl)	500/1000	Dolná medza stanoviteľnosti ($\mu\text{kat/l}$)	0,51
Časový rozdiel (sek.)	60	Linearita ($\mu\text{kat/l}$)	38,7
Kinetický interval (sek.)	60	Blank	Dest. voda
Počet odčitání	3	Limit absorbancie	0,8
Kinetický faktor	134,9	Jednotky	$\mu\text{kat/l}$
Reakčná teplota (°C)	37		

PREPOČET JEDNOTIEK

$\text{UI} \times 0,0167 = \mu\text{kat/l}$

REFERENČNÉ HODNOTY¹⁰

Pri 37 °C 3,83–7,67 $\mu\text{kat/l}$
Odporúča sa, aby si každé laboratórium overilo rozsah referenčného intervalu pre populáciu, pre ktorú zaisťuje laboratórne vyšetrenie.

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostné charakteristiky boli získané na automatickom systéme ERBA XL-640. Údaje získané vo vašom laboratóriu sa môžu od týchto hodnôt odlišovať.

Dolná medza stanoviteľnosti: 0,51 $\mu\text{kat/l}$

Dolná medza stanoviteľnosti označuje najnižšiu merateľnú hodnotu analytu. Je vypočítaná ako stanovená aktivita zriedenej vzorky s CV < 20 % (n = 30).

Linearita: 38,7 $\mu\text{kat/l}$

Linearita je najvyššia nameraná aktivita s výťažnosťou ± 10 % od teoretickej hodnoty.

Presnosť

Presnosť bola stanovená použitím kontrolných materiálov podľa interného protokolu s opakovateľnosťou (n = 20) a medziľahlou presnosťou (2 alikvoty v jednom meraní, 2 merania denne, 20 dní). Boli získané nasledujúce výsledky:

Opakovateľnosť	Priemer ($\mu\text{kat/l}$)	SD ($\mu\text{kat/l}$)	CV (%)
Vzorka 1	5,73	0,063	1,11
Vzorka 2	11,32	0,133	1,18

Medziľahlá presnosť	Priemer ($\mu\text{kat/l}$)	SD ($\mu\text{kat/l}$)	CV (%)
Vzorka 1	5,70	0,108	1,90
Vzorka 2	11,26	0,194	1,72

Spávanosť

Boli použité dva rôzne validované kontrolné materiály. Stanovený bias je -7,6 % pre hodnotu 8,25 $\mu\text{kat/l}$ a 10,3 % pre hodnotu 14,02 $\mu\text{kat/l}$.

Porovnanie

Hodnoty LDH, stanovené v 48 vzorkách na automatickom systéme XL-640 (y), boli porovnané s komerčne dostupným testom (x):

Lineárna regresia: $y = 0,953x - 0,157 \mu\text{kat/l} \quad r = 0,985$

Passing-Bablok¹¹: $y = 0,961x - 0,096 \mu\text{kat/l} \quad r = 0,958$

Interferencia

Kritérium: výťažnosť v rámci ± 10 % počiatočnej hodnoty LDH vo vzorke bez interferujúcich látok. Nasledovné analyty neinterferujú: hemoglobín do 1 g/l, bilirubín do 40 mg/dl, triglyceridy do 850 mg/dl. Signifikantná hemolýza môže zvýšiť hodnoty LDH v dôsledku vysokých hladín LDH v erytrocytoch. Liečivá: pri terapeutických koncentráciách nebola pri použití bežných panelov liekov zistená žiadna interferencia¹².

Obmedzenia

Zhoršená kvalita činidiel (napríklad prekročením skladovacej teploty) môže spôsobiť nesprávne výsledky.

Minimálna povolená absorbancia blanku pri 340 nm oproti destilovanej vode je 0,8.

Vysoké koncentrácie hemoglobínu, bilirubínu a triglyceridov vo vzorke môžu interferovať so stanovením LDH. Pozri odstavec Interferencia.

VAROVANIA A POKYNY NA BEZPEČNÉ ZAOBCHÁDZANIE

Určené na *in vitro* diagnostické použitie oprávnenou a odbornou spôsobilou osobou. Akákoľvek závažná nežiaduca príhoda, ku ktorej došlo v súvislosti s týmto prostriedkom, musí byť ohlásená výrobcovi a štátnej autorite.

Identifikácia nebezpečnosti v súlade s Nariadením (EC) č. 1272/2008

R1, R2

Činidlá súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

NAKLADANIE S ODPADMI

Likvidácia odpadových materiálov musí prebiehať v súlade s miestnymi predpismi.



LITERATÚRA

1. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Z klin Chem u klin Biochem 1970;8:658-659.
2. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Z klin Chem u klin Biochem 1972;10:182-190.
3. Henry, R.J., Chiamori N., Golub O.J., and Berkman S., Am.J. Clin. Path. 34(341), 1960.
4. Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1987;346-421.
5. Zimmerman HJ, Henry JB In: Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 17th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1984;251-282.
6. Dito WR. Lactate dehydrogenase: A brief review. In: Griffiths JC, ed. Clinical Enzymology. New York: Masson Publishing USA 1979:1-8.
7. Bais R, Philcox M. Approved recommendations of IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32(8):639-655.
8. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Pa: WB Saunders Co 1999;669.
9. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2: Jan 2002.
10. Pesce A. Lactate dehydrogenase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1124-117, 438.
11. Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.
12. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385

POUŽITÉ SYMBOLY



Katalógové číslo



Číslo šarže



Dátum expirácie



eFU:
www.erba.com



Diagnostický zdravotnícky prostriedok *in vitro*



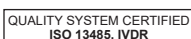
Výrobca



Obmedzenie teploty



Obsah



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erba.com

CC/IFU/019/26/A

Dátum revízie: 9. 4. 2026