

### Utilizarea prevăzută

Pentru determinarea cantitativă cinetică *in vitro* a activității lactat dehidrogenazei în ser cu ajutorul analizoarelor Yumizen C230 și Yumizen C240.

**Rx Only.**

### Semnificația clinică

Nivelurile crescute de LD sunt asociate cu infarctul miocardic. Nivelurile ajung la maximum la aproximativ 48 de ore de la debutul durerii și persistă aproximativ zece zile. Gradul de creștere este util în evaluarea amplitudinii daunelor și în elaborarea unui prognostic. Creșterile LD sunt observate și în bolile hepatice, anemia pernicioasă, în unele cazuri de boală renală și în unele cazuri de traumatisme musculare scheletice.<sup>1</sup>

### Istoricul metodei

Wroblewski și Ladue<sup>2</sup> au publicat prima metodă cinetică UV pentru determinarea activității LDH în ser în 1955. Metoda lor s-a bazat pe testul clasic al lui Kubowitz și Ott<sup>3</sup> (1943), care utilizează reacția piruvat - lactat. În 1956, Wacker et al<sup>4</sup> au descris o procedură care urmează o reacție lactat - piruvat. Reacția lactat - piruvat a devenit reacția preferată<sup>5</sup>, chiar dacă este cea mai lentă dintre cele două, din cauza unui interval liniar mai mare<sup>6</sup> și a absenței cerinței de pre-incubare<sup>7</sup>. Această metodă urmează reacția directă și a fost optimizată pentru o mai mare sensibilitate și liniaritate, așa cum este subliniat de Gay et al.<sup>8</sup>

### Principiul



Lactat dehidrogenaza catalizează oxidarea lactatului în piruvat cu reducerea simultană a NAD la NADH. Viteza de reducere a NAD poate fi măsurată ca o creștere a absorbției la 340 nm. Această viteză este direct proporțională cu activitatea LD din ser.

### Compoziția reactivului

După combinarea R1 și R2, reactivul conține: NAD 5,8 mM, L-Lactat 55 mM, soluție tampon pH 8,95. Stabilizatori nereactivi și azidă de sodiu (0,1%) drept conservant.

### Prepararea reactivului

Reactivii sunt furnizați sub formă de lichide gata de utilizare.

### Depozitarea și stabilitatea reactivilor

Dacă sunt depozitați conform instrucțiunilor, reactivii sunt stabili până la data de expirare. A se proteja de lumină. Evitați contaminarea microbiană.

### Precauții

- Acest reactiv este doar pentru diagnostic *in vitro*.
- Reactivii conțin azidă de sodiu (0,1%) drept conservant. A nu se ingera. Evitați contactul cu pielea și ochii. Azida de sodiu poate reacționa cu cuprul sau plumbul din conducte, formând azide metalice foarte explozive. La eliminarea reactivului, spălați cu multă apă.
- Toate specițiile și soluțiile de control trebuie manevrate în conformitate cu bunele practici de laborator, folosind precauțiile adecvate descrise în Manualul CDC/NIH, „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories” (Siguranța biologică în laboratoarele microbiologice și biomedicale), Ed. a 2-a, 1988, Nr. publicație HHS (CDC) 88-8395.

### Recoltarea și depozitarea specițiilor

- Se recomandă serul nehemolizat. Globulele roșii conțin concentrații mari de LD.<sup>5</sup>
- Serul trebuie separat de coagul cât mai curând posibil.
- Probele trebuie analizate la scurt timp după recoltare. LD din ser este raportat ca fiind stabilă timp de trei zile la temperatura camerei.<sup>9</sup>
- Nu congelați și nu expuneți serul la temperaturi ridicate (37°C), deoarece acest lucru poate inactiva izoenzimele LD termolabile.<sup>10</sup>
- Recoltarea specițiilor trebuie efectuată în conformitate cu NCCLS M29-T2.<sup>11</sup> Nicio metodă nu poate oferi asigurarea completă că probele de sânge uman nu vor transmite infecții. Prin urmare, toate probele trebuie considerate potențial infecțioase.

### Interacțiuni

- Anumite medicamente și substanțe afectează activitatea LD. Consultați Young et al.<sup>12</sup>
- S-a constatat că, până la nivelul de 20 mg/dL, bilirubina prezintă o interferență neglijabilă ( $\leq 5\%$ ) în acest test.
- S-a constatat că hemoliza interferează semnificativ cu testul chiar la niveluri de 100 mg/dL.

### Materiale furnizate

Reactiv soluție tampon de lactat dehidrogenază (R1)

Reactiv coenzimatic de lactat dehidrogenază (R2)

### Materiale necesare, dar nefurnizate

- Analizorul Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manualul de utilizare al analizorului Yumizen C230 / Yumizen C240
- Soluție de control Pointe Chemistry, număr catalog C7592-100

### Parametrii testului

Test:	LDH	Chimie:	Lactate Dehidrogenase
Nr. chimie:	223	Denumire:	LDH
Tip reacție:	Cinetică	Direcție reacție:	Pozitivă
Undă primară:	340 nm	Undă secundară:	405 nm
Zecimal:	0	Tip probă:	Ser
Timp martor:		Timp reacție:	3 11
Unitate:	U/L	Timp de incubare:	3

	Vol. probă	Aspirat	Diluant	Vol. reactiv	Diluant
Standard;	11	uL	uL	180	uL
Redus;		uL	uL	45	uL
Crescut;		uL	uL		

Interval linearitate (Standard):	0-1000	Limită linearitate:	0.3
Interval linearitate (Redus):		Depleția substratului:	23000
Interval linearitate (Crescut):		Absorbanta martor amestecat:	- 40000 40000
Absorbanta martor R1:	- 40000 40000	Stabilitate în instrument:	30 Zi (zile)
Reacție martor	- 40000 40000	Limită de alarmă reactiv:	5
Chimie twin:			

Verificare prozonă:			
Q1:		Q2:	Q3:
Q4:		PC:	ABS:

Utilizare rezultat cantitativ:		
Interval:		Marcaj:

Decalaj pantă:			
Decalaj	1	pantă	0
Unitate			U/L

Tratare prealabilă:			
Vol. probă pretrată:	uL	Vol. reactiv pretratat:	uL

Interval de referință:					
Tip probă:	Sex:	Interval de vârstă:	Interval de referință:	Interval critic:	Unitate:

# Pointe Liquid Lactate Dehidrogenase Set de reactivi

## Parametri configurare calibrare

Chem:	LDH	Soluție de calibrare	Conc.	Poz	Nr. lot
Setare calibrare		Apă	0,0	W	
Model matematic: Factor K					
Factor: 3907,000 Repetări: 2					
Limite de acceptanță					
Timp Cal: 24 hr.					
Dif. pantă: SD:					
Sensibilitate: Repetabilitate:					* Definit de utilizator
Coef. Deter:					
Calib. automată	<input type="checkbox"/>	Timp Cal			

## Limitări

- Serul hemolizat va cauza niveluri serice de LD fals crescute.
- Probele cu valori care depășesc limita de linearitate (1000 U/L) trebuie diluate cu un volum egal de soluție salină și testate din nou. Înmulțiți rezultatul cu doi pentru a compensa diluția.

## Calibrarea

Procedura este standardizată cu ajutorul absorbției milimolare NADH, considerate 6,22 la 340 nm în condițiile de testare specificate.

## Controlul calității

Validitatea reacției trebuie monitorizată prin utilizarea probelor de control cu valori normale și anormale cunoscute ale LD. Aceste soluții de control trebuie procesate cel puțin o dată în fiecare tură de lucru în care se efectuează teste de LD. Recomandăm insistent ca fiecare laborator să își stabilească propria frecvență de determinare a soluției de control. Cerințele privind controlul calității trebuie stabilite în conformitate cu reglementările locale, statale și/sau federale sau cu cerințele de acreditare.

## Calcul (Exemplu)

O unitate internațională (U/L) este definită drept cantitatea de enzimă care catalizează transformarea unui micromol de substrat pe minut.

$$IU/L = \frac{(A_2 - A_1) \times 1,050 \times 1000}{1 \times 6,22 \times 0,050 \text{ mL}} = (A_2 - A_1) \times 3376$$

Unde:

(A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>) = Modificarea absorbanței  
1,050 = Volumul total de reacție în mL  
1000 = Conversia U/mL în U/L  
1 = Calea luminii în cm  
6.22 = Absorbția milimolară a NADH  
0,050 = Volumul probei în mL

Exemplu: Dacă măsurarea inițială (A<sub>1</sub>) = 0,450

Măsurarea finală (A<sub>2</sub>) = 0,480

(A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>) = 0,03

Atunci 0,03 x 3376 = 101 U/L

Notă: Pentru unități SI (nkat/L), înmulțiți rezultatul cu 16,76.

## Valori așteptate<sup>5</sup>

Bărbați 50-166 U/L (30°C) 80-285 U/L (37°C)

Femei 60-132 U/L (30°C) 103-227 U/L (37°C)

Din cauza unei game largi de condiții (de alimentație, geografice, de vârstă etc.) despre care se știe că afectează intervalele de referință, recomandăm ca fiecare laborator să își stabilească propriul interval de referință.

## Performanță

- Test: 0-1000 U/L. Probele cu valori care depășesc 1000 U/L trebuie diluate cu un volum egal de soluție salină și testate din nou, înmulțind rezultatele cu doi.

- Corelare: S-a realizat un studiu comparativ între analizoarele din seria Yumizen 200 și un analizor similar cu această metodă, având ca rezultat un coeficient de corelare de 0,999 și o ecuație de regresie  $y=1,013x + 4,1$ .
- Precizie: S-au realizat studii de precizie în urma unei modificări a liniilor directe incluse în documentul NCCLS EP5-T2.<sup>12</sup>

### În cadrul ciclului de procesare

Media	S.D.	C.V.%	De la o zi la alta	Media	S.D.	C.V.%
131,6	4,4	3,4	114,4	2,3	2,0	
331,5	6,4	1,9	331,3	7,0	2,1	

- Sensibilitate: Sensibilitatea față de reactivul LD lichid a fost investigată prin măsurarea modificării absorbției la 340 nm pentru o probă de apă deionizată și probe de ser cu activitate LD cunoscută. S-au efectuat zece repetări pentru fiecare probă. Rezultatele acestei investigații au arătat că, pe analizorul utilizat, reactivul lichid LD a prezentat o abatere redusă sau nicio abatere a reactivului pe o probă blank. În condițiile de reacție descrise, o modificare a absorbției de 0,0001 a fost echivalentă cu aproximativ 1 U/L de activitate LD.

## Referințe

- Tietz, N.W., editor, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3<sup>rd</sup> Ed., W.B. Saunders Co., 391 (1987).
- Wroblewski, F., LaDue, J.S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90:210 (1955).
- Kubowitz, F., Ott, P., Biochem. 314:94 (1943).
- Wacker, W.E.C., et al, N. Engl. J. Med. 255:449 (1956).
- Henry, R.J. et al, Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2<sup>nd</sup> Ed., Hagerstown (MD) Harper & Row, pp. 819-831. (1974).
- Amador, E., et al, Clin. Chem. 9:391 (1963).
- Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289 (1977).
- Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Ed., W.B. Saunders Co., 657 (1976).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Ed., W.B. Saunders Co., 657, (1976).
- Kreutzer, H.H., et al, Clin. Chim. Acta 9:64 (1964).
- Documentul NCCLS M29-T2, Ediția a 2-a (1991).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D (1975).
- Documentul NCCLS „Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices”, Ed. a 2-a (1992).

## Legendă simboluri

A se utiliza până la (AAAA-LL-ZZ) **LOT** Cod lot și serie

**REF** Număr catalog Producător

**IVD** Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro* Limită de temperatură

Consultați instrucțiunile de utilizare

**Rx Only:** Numai pentru utilizare pe bază de prescripție medicală

Marcai CE **EC REP** Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană

**REF** 12-L7572-100

Produs de  
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand  
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Produs de HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Reprezentant autorizat în Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIA

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



## Certificat pentru efectuarea reactivilor

Reactivii Pointe sunt certificați ca fiind fabricați în conformitate cu parametrii specificați. Orice produs reactiv Pointe care nu îndeplinește specificațiile prin data de expirare indicată va fi remediat imediat fără niciun cost suplimentar.