



LDH-P UNIIII

AA

Método UV optimizado (SFBC) para la determinación de lactato deshidrogenasa (LDH) en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

La determinación de la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) tiene una gran variedad de aplicaciones clínicas. Por ser una enzima intracelular, su elevación es índice de daño tisular con la consecuente liberación de ésta a la circulación. El daño puede variar desde una simple anoxia con ligero daño celular y pérdida de citoplasma hasta necrosis celular severa generando diversos grados de elevación de la actividad enzimática.

En el infarto agudo de miocardio, la actividad de LDH total (junto con las CK y AST), constituye un elemento importante de diagnóstico. La misma comienza a elevarse 12-24 horas después de producido el infarto; alcanza un pico entre las 48-72 horas y permanece elevada hasta el séptimo o décimo día. También se registra un aumento de actividad de LDH total en pacientes con necrosis hepática (producida por agentes tóxicos o por infección aguda como la hepatitis viral) e incluso acompañando a necrosis tubular renal, pielonefritis, etc. En los tumores sanguíneos como leucemias y linfomas también se observan valores aumentados de la LDH.

En el líquido cefalorraquídeo (LCR) el valor normal es de aproximadamente el 10% de su valor en suero, aumentando marcadamente su valor en meningitis bacterianas. En las meningitis virales la LDH aumenta su valor solo en el 10% de los casos.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema de reacción:



Las concentraciones del ensayo están optimizadas de acuerdo a la Sociedad Francesa de Biología Clínica (SFBC).

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de buffer Tris, pH 7,2 conteniendo piruvato y cloruro de sodio.

B. Reactivo B: solución conteniendo NADH.

Concentraciones finales (según SFBC)

Tris.....	80 mM, pH 7,2
Piruvato	1,6 mmol/l
NADH	0,2 mmol/l
ClNa.....	200 mmol/l

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. Pueden usarse separados o como **Reactivo único**, mezclando 4 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados y fuera del refrigerador durante lapsos prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): en refrigerador (2-10°C) es estable 1 mes a partir de la fecha de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único premezclado inferiores a 0,800 D.O. o superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener suero de la manera usual y separar del coágulo dentro de las dos horas de su obtención. También puede usarse plasma.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, debe usarse heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por triglicéridos hasta 570 mg/dl, bilirrubina hasta 18 mg/dl, hemoglobina hasta 180 mg/dl (en muestras con niveles normales de LDH) o hasta 350 mg/dl (en muestras con niveles elevados de LDH), ni heparina hasta 50 UI/ml. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. La LDH es estable hasta 24 horas en refrigerador. No congelar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Material volumétrico adecuado.
- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

(Disminución de absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366)
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
- Tiempo de reacción: 3 minutos y 30 segundos.

Los volúmenes de muestra y reactivo se pueden variar proporcionalmente sin que se alteren los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

I- TECNICA CON REACTIVO UNICO

A) 30-37°C

En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo único 1 ml

Preincubar unos minutos, luego agregar:

Muestra 20 ul

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 30 segundos. Leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 25°C

Emplear 100 ul de Muestra y 3 ml Reactivo único, siguiendo el procedimiento indicado en I-A).

II- TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

A) 30-37°C

En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo A 1 ml

Muestra 20 ul

Preincubar unos minutos, luego agregar:

Reactivo B 0,25 ml

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 30 segundos. Leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 25°C

Emplear 3 ml de Reactivo A con 100 ul de Muestra y 0,75 ml de Reactivo B, siguiendo el procedimiento indicado en II-A).

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{LDH (U/l)} = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$$

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente de acuerdo a la temperatura de reacción seleccionada (30-37°C o 25°C) y a la técnica empleada (con Reactivo único o separados) como se indica en las siguientes tablas de factores:

TECNICA CON REACTIVO UNICO

Temperat. Long. onda	25°C	30-37°C
340 nm	4.921	8.095
334 nm	5.016	8.253
366 nm	9.118	15.000

TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

Temperat. Long. onda	25°C	30-37°C
340 nm	6.111	10.080
334 nm	6.230	10.275
366 nm	11.324	18.675

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de lactato deshidrogenasa, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores (U/l)	120-240	160-320	230-460

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$$\text{LDH (U/l)} \times 0,017 = \text{LDH (ukat/l)}$$

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Absorbancia inicial baja: cuando una vez agregado el suero, la primera lectura (tiempo 0) es inferior a 0,800 D.O. estando el Reactivo B en condiciones, indica una muestra con muy alta actividad de LDH (que consume NADH aún antes de esta lectura). En este caso, repetir la determinación con muestra diluida 1/10 con solución fisiológica y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando simultáneamente replicas de una misma muestra, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	C.V.
439 U/l	± 3,64 U/l	0,8 %
919 U/l	± 11,41 U/l	1,2 %

b) Linealidad: el límite de linealidad es hasta 1000 U/l. Si la $\Delta A/\text{min}$ es superior a 0,120 D.O. (340-334 nm y 37°C), repetir la determinación con muestra diluida 1/5 ó 1/10 con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

c) Límite de cuantificación: la mínima actividad cuantificable de lactado deshidrogenasa es 24 U/l.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

90 ml: - 2 x 36 ml Reactivo A

- 2 x 9 ml Reactivo B

(Cód. 1008114)*

100 ml: - 4 x 20 ml Reactivo A

- 1 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1009267)

100 ml: - 4 x 20 ml Reactivo A

- 1 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1521304)

125 ml: - 5 x 20 ml Reactivo A

- 2 x 12,5 ml Reactivo B

(Cód. 1009315)

150 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A

- 2 x 15 ml Reactivo B

(Cód. 1009626)

150 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A

- 2 x 15 ml Reactivo B

(Cód. 1009934)

BIBLIOGRAFIA

- Societé Française de Biologie Clinique (SFBC) - Ann. Biol. Clin. 40:160, 1982.

- Sociedad Española de Química Clínica - Comité Científico, Comisión de Enzimas - Quim. Clin. 57-61, 1989.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado en la Comunidad Europea

Uso diagnóstico "in vitro"

Contenido suficiente para <n> ensayos

Fecha de caducidad

Límite de temperatura (conservar a)

No congelar

Riesgo biológico

Volumen después de la reconstitución

Contenido

Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Cáustico

Irritante

Consultar instrucciones de uso

Calibrador

Control

Control Positivo

Control Negativo

Número de catálogo

Método UV otimizado (SFBC) para a determinação de lactato desidrogenase (LDH) em soro ou plasma



SIGNIFICADO CLÍNICO

A determinação da atividade do lactato desidrogenase (LDH) tem uma grande variedade de aplicações clínicas. Visto que é uma enzima intracelular, sua elevação é indicio de dano tissular com a conseqüente liberação da enzima à circulação. O dano pode variar desde uma simples anoxia com ligeiro dano celular e perda de citoplasma até necrose celular severa gerando diversos graus de elevação da atividade enzimática.

No enfarte agudo do miocárdio, a atividade de LDH total (junto com a de CK e AST) constitui um elemento importante de diagnóstico. A atividade cardíaca começa a aumentar 12 a 24 horas após o enfarte, alcança um pico entre as 48-72 horas e permanece elevada até o sétimo ou décimo dia. Também se registra um aumento da atividade de LDH total em pacientes com necrose hepática (produzida por agentes tóxicos ou por infecções agudas como a hepatite viral) e também acompanhando necrose tubular renal, pielonefrite, etc. Nos tumores sanguíneo como leucemias e linfomas também são observados valores aumentados de LDH.

No líquido cefalorraquidiano (LCR) o valor normal é aproximadamente 10% do seu valor em soro, aumentado marcadamente seu valor em meningites bacterianas. Nas meningites virais a LDH aumenta seu valor só em 10% dos casos.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

Baseado no seguinte esquema de reação:



As concentrações do ensaio estão otimizadas de acordo com a Sociedade Francesa de Biologia Clínica (SFBC).

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução de tampão Tris pH 7,2 contendo piruvato e cloreto de sódio.

B. Reagente B: solução contendo NADH.

Concentrações finais (segundo SFBC)

Tris.....	80 mM; pH 7,2
piruvato.....	1,6 mmol/l
NADH.....	0,2 mmol/l
CINa.....	200 mmol/l

INSTRUÇÕES PARA USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem-se usar separados ou como **Reagente único**, misturando 4 partes de Reagente A com 1 parte de Reagente B (ex.: 4 ml Reagente A + 1 ml Reagente B).

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Uma vez abertos, não devem permanecer destampado nem fora do refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pre-misturado): é estável um mês sob refrigeração (2-10°C), a partir do momento de sua preparação.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Quando o espectrofotômetro for levado a zero com água destilada, leituras de absorbância do Reagente único abaixo de 0,800 D.O. ou acima de 1,800 D.O. (a 340 nm) são indícios de deterioração do mesmo.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: deve-se obter soro do modo usual e separar do coágulo dentro de até duas horas após sua obtenção. Também pode-se utilizar plasma.

b) Aditivos: se for plasma, deve-se utilizar heparina como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observam interferências por triglicérides até 570 mg/dl, bilirrubina até 18 mg/dl, hemoglobina até 180 mg/dl (em amostras com níveis normais de LDH) ou até 350 mg/dl (em amostras com níveis elevados de LDH), nem heparina até 50 UI/ml. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente fresca. A LDH é estável até 24 horas sob refrigeração. Não congelar.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Material volumétrico adequado.
- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento.
- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

(Diminuição de absorvância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366)

- Temperatura da reação: 25, 30 ou 37°C. Vide os VALORES DE REFERÊNCIA correspondentes a cada temperatura.

- Tempo de reação: 3 minutos e 30 segundos.

Os volumes de amostra e reagente podem ser reduzidos proporcionalmente, sem que variem os fatores de cálculo.

PROCEDIMENTO

I- TÉCNICA COM REAGENTE ÚNICO

A) 30-37°C

Em uma cubeta mantida à temperatura de trabalho, colocar:

Reagente único 1 ml

Pré-incubar alguns minutos, e adicionar a seguir:

Amostra 20 ul

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Esperar 30 segundos. Ler a absorvância inicial (ver LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO) e após aos 1, 2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorvância/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Empregar 100 ul de Amostra e 3 ml de Reagente único, seguindo o procedimento indicado em I-A).

II- TÉCNICA COM REAGENTES SEPARADOS

A) 30-37°C

Em uma cubeta mantida a temperatura de trabalho, colocar:

Reagente A 1 ml

Amostra 20 ul

Pré-incubar alguns minutos, e adicionar a seguir:

Reagente B 0,25 ml

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Esperar 30 segundos. Ler a absorvância inicial (ver LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO) e após aos 1, 2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorvância/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Empregar 3 ml de Reagente A com 100 ul de Amostra e 0,75 ml de Reagente B, seguindo o procedimento indicado em II-A).

CÁLCULOS DOS RESULTADOS

$\text{LDH (U/l)} = \Delta A/\text{min} \times \text{fator}$

Em cada caso deverá ser utilizado o fator de cálculo correspondente de acordo com a temperatura de reação selecionada (30-37°C ou 25°C) e à técnica empregada (com Reagente único ou separados) como se indica na seguinte tabela de fatores:

TÉCNICA COM REAGENTE ÚNICO

Temperat.	25°C	30-37°C
Long. onda		
340 nm	4921	8095
334 nm	5016	8253
366 nm	9118	15000

TÉCNICA COM REAGENTES SEPARADOS

Temperat.	25°C	30-37°C
Long. onda		
340 nm	6111	10080
334 nm	6230	10275
366 nm	11324	18675

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com atividades conhecidas de lactato desidrogenase, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores (U/l)	120-240	160-320	230-460

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

$\text{LDH (U/l)} \times 0,017 = \text{LDH (ukat/l)}$

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Ver Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Absorvância inicial baixa: uma vez adicionado o soro, se a primeira leitura (tempo 0) for inferior a 0,800 D.O., estando o Reagente B em condições, indica uma amostra com atividade muito alta de LDH (que consome NADH ainda antes desta leitura). Neste caso, repetir a determinação com amostra diluída 1/10 com solução fisiológica e multiplicar o resultado pela diluição efetuada.

DESEMPENHO

a) **Reprodutibilidade:** processando simultaneamente duplicatas das mesmas amostras, obtiveram-se os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
439 U/l	$\pm 3,64 \text{ U/l}$	0,8 %
919 U/l	$\pm 11,41 \text{ U/l}$	1,2 %

b) **Linearidade:** o limite de linearidade é até 1000 U/l. Se o

$\Delta A/\text{min}$ é superior a 0,120 D.O. (340-334 nm e 37°C), repetir a determinação com amostra diluída 1/5 ou 1/10 com solução fisiológica, corrigindo conseqüentemente os resultados.

c) Limite de quantificação: a mínima atividade quantificável de lactato desidrogenase é 24 U/l.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o Manual de Uso do analisador a ser utilizado.

APRESENTAÇÃO

90 ml: - 2 x 36 ml Reagente A
- 2 x 9 ml Reagente B

(Cód. 1008114)*

100 ml: - 4 x 20 ml Reagente A
- 1 x 20 ml Reagente B

(Cód. 1521304)

100 ml: - 4 x 20 ml Reagente A
- 1 x 20 ml Reagente B

(Cód. 1009267)

125 ml: - 5 x 20 ml Reagente A
- 2 x 12,5 ml Reagente B

(Cód. 1009315)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagente A
- 2 x 15 ml Reagente B

(Cód. 1009626)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagente A
- 2 x 15 ml Reagente B

(Cód. 1009934)

REFERÊNCIA

- Societé Français de Biologie Clinique (SFBC) - Ann. Biol. Clin. 40: 160, 1982.

- Sociedad Española de Química Clínica. Comité Científico, Comisión de Enzimas. - Quím. Clin. 57-61, 1989.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

EC REP Representante autorizado na Comunidade Europeia

MD Uso médico-diagnóstico "in vitro"

Conteúdo suficiente para <n> testes

Data de validade

Limite de temperatura (conservar a)

Não congelar

Risco biológico

Volume após a reconstituição

Cont. Conteúdo

LOT Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Caústico

Irritante

Consultar as instruções de uso

Calibr. Calibrador

CONTROL Controle

CONTROL + Controle Positivo

CONTROL - Controle Negativo

REF Número de catálogo



Optimized UV method (SFBC) for the determination of lactate dehydrogenase (LDH) in serum or plasma

SUMMARY

The determination of lactate dehydrogenase activity has a wide variety of clinical uses. As an intracellular enzyme, its increase indicates tissue damage with its consequent release to the blood stream. The damage can range from simple anoxia with small cell damage and cytoplasm loss to severe cellular necrosis causing various degrees of enzyme activity increase.

In Acute Myocardial Infarction, the total LDH activity (along with that of CK and AST) constitutes an important diagnostic element. The activity starts increasing 12-24 hours after the infarction and reaches a peak between 48-72 hours, remaining high up to the seventh or tenth day.

On the other hand, an LDH activity increase is observed in patients with hepatic necrosis (produced by toxic agents or acute infections such as viral hepatitis) even accompanying renal tubular necrosis, pyelonephritis, etc.

In blood tumors like leukemia and lymphoma increased levels of LDH are also observed.

In the cerebrospinal fluid (CSF) normal value is approximately 10% of its value in serum, markedly increasing its value in bacterial meningitis. In viral meningitis, LDH increases its value only in 10% of cases.

PRINCIPLE

The reaction system is as follows:



Assay concentrations are optimized according to the Société Française de Biologie Clinique (SFBC).

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: Tris buffer solution pH 7.2, containing pyruvate and sodium chloride.

B. Reagent B: vial containing NADH.

Final concentrations (according to SFBC)

Tris.....	80 mM, pH 7.2
Pyruvate	1.6 mmol/l
NADH	0.2 mmol/l
CiNa.....	200 mmol/l

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use. They could be used separately or as **Monoreagent**, mixing 4 parts Reagent A with 1 part Reagent B (e.g.: 4 ml Reagent A + 1 ml Reagent B).

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: are stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Once opened, they should not remain uncapped and outside the refrigerator for extended periods of time. Avoid contamination.

Monoreagent (premixed): stable in refrigerator (2-10°C) for 1 month from reconstitution date.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

When the spectrophotometer has been set to zero with distilled water, absorbance readings of the premixed Monoreagent lower than 0.800 O.D. or higher than 1.800 O.D. (at 340 nm) indicate its deterioration.

SAMPLE

Serum or plasma

a) Collection: obtain serum as usually. Separate serum from clot within 2 hours from collection. Plasma can also be used.

b) Additives: when using plasma, use heparin as anticoagulant.

c) Known interference substances: no interferences are observed from triglycerides up to 570 mg/dl, bilirubin up to 18 mg/dl, hemoglobin up to 180 mg/dl (in samples with normal levels of LDH) or up to 350 mg/dl (in samples with elevated levels of LDH) and heparin up to 50 IU/ml.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: use fresh samples. LDH is stable in refrigerator up to 24 hours. Do not freeze.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Adequate volumetric material.
- Water bath at the temperature stated under PROCEDURE.
- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

(Absorbance decrease)

- Wavelength: 340 nm (Hg 334 or 366)
- Reaction Temperature: 25, 30 or 37°C. See REFERENCE VALUES corresponding to each temperature.
- Reaction Time: 3 minutes and 30 seconds.

The sample and reagent volumes may be proportionally modified without altering the calculation factors.

PROCEDURE

I- MONOREAGENT TECHNIQUE

A) 30-37°C

In a cuvette at the desired working temperature, place:

Monoreagent 1 ml

Pre-incubate for a few minutes, then add:

Sample 20 ul

Mix immediately and simultaneously start the stopwatch. Wait for 30 seconds. Read initial absorbance (see PROCEDURE LIMITATIONS) and then at 1, 2 and 3 minutes from the first reading. Determine the average change in absorbance/min ($\Delta A/\text{min}$), subtracting each reading from the previous one and averaging the values. Use this mean for calculations.

B) 25°C

Use 100 ul Sample and 3 ml Monoreagent, following the procedure indicated in I-A).

II- SEPARATE REAGENTS' TECHNIQUE

A) 30-37°C

In a cuvette at working temperature, place:

Reagent A 1 ml

Sample 20 ul

Pre-incubate for a few minutes, then add:

Reagent B 0.25 ml

Mix immediately and simultaneously start the stopwatch. Wait for 30 seconds. Read initial absorbance (see PROCEDURE LIMITATIONS) and then at 1, 2 and 3 minutes from the first reading. Determine the average change in absorbance/min ($\Delta A/\text{min}$), subtracting each reading from the previous one and averaging the values. Use this mean for calculations.

B) 25°C

Use 3 ml Reagent A with 100 ul Sample and 0.75 ml Reagent B, following the procedure indicated in II-A).

CALCULATIONS

$$\text{LDH (U/l)} = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$$

In each case, the corresponding calculation factor should be used according to the selected reaction temperature (30-37°C or 25°C) and the technique used (Monoreagent or separate reagent) as shown in the table below:

MONOREAGENT TECHNIQUE

Wavelength	Temperat.	
	25°C	30-37°C
340 nm	4,921	8,095
334 nm	5,016	8,253
366 nm	9,118	15,000

SEPARATE REAGENTS TECHNIQUE

Wavelength	Temperat.	
	25°C	30-37°C
340 nm	6,111	10,080
334 nm	6,230	10,275
366 nm	11,324	18,675

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known lactate dehydrogenase activity.

REFERENCE VALUES

Temperature	25°C	30°C	37°C
Values (U/l)	120-240	160-320	230-460

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

$$\text{LDH (U/l)} \times 0.017 = \text{LDH (ukat/l)}$$

PROCEDURE LIMITATIONS

See known interfering substances under SAMPLE.

Low initial absorbance: once the serum is added, if the first reading (0 time) is lower than 0.800 O.D., with the Reagent B in good conditions, it indicates a sample with a very high LDH activity (that consumes NADH even before this reading). In this case, dilute the sample 1/10 with saline solution, repeat the assay, and multiply the result by the dilution performed.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: when simultaneously processing replicates of one sample, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
439 U/l	± 3.64 U/l	0.8 %
919 U/l	± 11.41 U/l	1.2 %

b) Linearity: the linearity range is extended up to 1000 U/l. If $\Delta A/\text{min}$ is higher than 0.120 O.D. (340-334 nm and 37°C), repeat the assay, dilute the sample 1/5 or 1/10 with saline solution, correcting the results accordingly.

c) Quantification limit: the lower quantifiable lactate dehydrogenase activity is 24 U/l.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

WIENER LAB PROVIDES

90 ml: - 2 x 36 ml Reagent A

- 2 x 9 ml Reagent B

(Cat. N° 1008114)*

100 ml: - 4 x 20 ml Reagent A

- 1 x 20 ml Reagent B

(Cat. Nr. 1521304)

100 ml: - 4 x 20 ml Reagent A
- 1 x 20 ml Reagent B
(Cat. Nr. 1009267)

125 ml: - 5 x 20 ml Reagent A
- 2 x 12.5 ml Reagent B
(Cat. Nr. 1009315)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagent A
- 2 x 15 ml Reagent B
(Cat. Nr. 1009626)


150 ml: - 2 x 60 ml Reagent A
- 2 x 15 ml Reagent B
(Cat. Nr. 1009934)

REFERENCES

- Société Française de Biologie Clinique (SFBC) - Ann. Biol. Clin. 40:160, 1982.
- Sociedad Española de Química Clínica - Comité Científico, Comisión de Enzimas - Quim. Clin. 57-61, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.


SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

 This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

 Authorized representative in the European Community

 "In vitro" diagnostic medical device


 Contains sufficient for <n> tests

 Use by


 Temperature limitation (store at)

 Do not freeze

 Biological risks


 Volume after reconstitution


 Contents


 Batch code


 Manufactured by:

 Harmful

 Corrosive / Caustic

 Irritant

 Consult instructions for use

 Calibrator

 Control

 Positive Control

 Negative Control

 Catalog number



LDH-P UNIII

LINIA PŁYNNA

AA

Nr kat. 1521304 Nr kat. 1009626
Nr kat. 1009267 Nr kat. 1009934
Nr kat. 1009315 Nr kat. 1008114

Optymalizowana metoda UV (SFBC) do oznaczania dehydrogenazy mleczanowej (lactate dehydrogenase-LDH) w surowicy krwi lub osoczu

WSTĘP

Oznaczenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy ma szerokie zastosowanie kliniczne. W przypadku ostrego zawału mięśnia sercowego całkowita aktywność LDH (łącznie z CK oraz GOT) stanowi istotne narzędzie diagnostyczne. Wzrost aktywności rozpoczyna się w ciągu 12-24 godzin po zawale, osiąga poziom szczytowy pomiędzy 48-72 godziną i utrzymuje się do 7-10 dnia. Z drugiej strony wzrost całkowitej aktywności LDH jest obserwowany u pacjentów z martwicą wątroby związaną z ostrą infekcją np. wirusowym zapaleniem lub czynnikami toksycznymi a także przy martwicy cewek nerkowych, zapaleniu odmiedniczkowym nerek, itp.

ZASADA DZIAŁANIA

Układ reakcji jest następujący:



Stężenia dla badania zostały optymalizowane zgodnie z standardami Societ  Franais de Biologie Clinique (SFBC).

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór buforu Tris pH 7,2, zawierający pirogronian i chlorek sodu.

B. Odczynnik B: fiolka zawierająca NADH.

Końcowe stężenia (zgodnie z SFBC)

Tris.....	80 mM, pH 7,2
Pirogronian.....	1,6 mmol/l
NADH.....	0,2 mmol/l
NaCl.....	200 mmol/l

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia. Mogą być zastosowane oddzielnie lub jako Monoodczynnik, mieszając 4 częsci Odczynnika A z 1 czsci Odczynnika B (np.: 4 ml Odczynnika A + 1 ml Odczynnika B).

OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro". Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych. Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: są trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty waŹności umieszczonej na opakowaniu. Po

otwarciu, nie zostawiać bez przykrycia i poza lodówką na dłuŹszy czas. Unikać zanieczyszczenia.

Monoodczynnik (uprzednio zmieszany): trwały w lodówce (2-10°C) przez 1 mie sic od daty rozpuszczenia.

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Kiedy spektrofotometr zostanie ustawiony na zero na wodzie destylowanej, odczyty absorbancji uprzednio przygotowanego Monoodzynnika niŹsze niŹ 0,800 O.D. lub wyŹsze niŹ 1.800 O.D. (przy 340 nm) wskazują na pogorszenie jakości odczynnika.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze

a) Pobranie: pobrać surowicę krwi w klasyczny sposób. Oddzielić surowicę od skrzepu w ciągu 2 godzin od pobrania. MoŹna stosować równieŹ osocze.

b) Substancje dodatkowe: dla osocza jako antykoagulant zastosować heparynę.

c) Znane interakcje: nie obserwowano interakcji z trójglicerydami do 570 mg/dl, bilirubin do 18 mg/dl, hemoglobin do 180 mg/dl (w próbkach o prawidłowym poziomie LDH) lub do 350 mg/dl (w próbkach o podniesionym poziomie LDH) oraz z heparyn do 50 IU/ml. Zobacz Źródło: Young, D.S. w sprawie wplywu lekw w tej metodzie

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: uŹywać świeŹszego materiału. LDH jest trwała w lodówce do 24 godzin. Nie zamraŹać.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr.
- Mikropipety i pipety do pomiaru określonej objętości.
- Sprzęt do pomiaru objętości.
- Łznia wodna o temp. wskazanej w rozdz. PROCEDURE.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

(zmniejszenie absorbancji)

- Długość fali: 340 nm (Hg 334 lub 366)
 - Temperatura reakcji: 25, 30 lub 37°C. Patrz WARTOŚCI REFERENCYJNE odpowiadające danej temperaturze.
 - Czas reakcji: 3 minuty i 30 sekund.
- Objętości Materiału badanego i odczynników mogą być proporcjonalnie zmieniane bez zmiany współczynników do obliczeń.

PROCEDURA

I- METODA Z MONOODCZYNNIKIEM

A) 30-37°C

W kuwecie o temperaturze wybranej dla procesu umieścić:

Monoodczynnik 1 ml

Incubować wstępnie przez kilka minut, następnie dodać:

Materiał badany 20 ul

Natychmiast zamieszać i równocześnie włączyć stoper. Odczekać 30 sekund. Odczytać początkową absorbancję (patrz OGRANICZENIA PROCEDURY) a następnie w 1., 2. i 3. minucie od pierwszego odczytu. Określić średnią zmianę absorbancji/min ($\Delta A/\text{min}$), odejmując każdy kolejny odczyt od poprzedniego uśredniając wartości. Użyć średniej do OBLICZEŃ.

B) 25°C

Użyć 100 ul Materiału badanego oraz 3 ml Monoodcynnika, zastosować procedurę wskazaną w I-A).

II- METODA ODDZIELNYCH ODCZYNNIKÓW

A) 30-37°C

W kuwecie o wybranej temperaturze dla procesu umieścić:

Odczynnik A 1 ml

Materiał badany 20 ul

Incubować wstępnie przez kilka minut, następnie dodać:

Odczynnik B 0,25 ml

Natychmiast zamieszać i równocześnie włączyć stoper.

Odczekać 30 sekund. Odczytać początkową absorbancję (patrz OGRANICZENIA PROCEDURY) a następnie w 1., 2. i 3. minucie od pierwszego odczytu. Określić średnią zmianę absorbancji/min ($\Delta A/\text{min}$), odejmując każdy kolejny odczyt od poprzedniego uśredniając wartości. Użyć średniej do OBLICZEŃ.

B) 25°C

Użyć 3 ml Odczynnik A z 100 ul Materiału badanego i 0,75 ml Odczynnik B, zastosować procedurę wskazaną w II-A).

METODA Z MONOODCZYNNIKIEM

Temperatura \ Długość fali	25°C	37°C
340 nm	4921	8095
334 nm	5016	8253
366 nm	9118	15000

METODA ODDZIELNYCH ODCZYNNIKÓW

Temperatura \ Długość fali	25°C	37°C
340 nm	6111	10080
334 nm	6230	10275
366 nm	11324	18675

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, za każdym razem, należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (Standatrol S-E 2 niveles) ze znanym poziomem aktywności dehydrogenazy mleczanowej.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Wartości (U/l)	120-240	160-320	230-460

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

LDH (U/l) x 0,017 = LDH (ukat/l)

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz Znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY. Niska absorbancja początkowa: po dodaniu surowicy, przy pierwszym odczycie (czas 0) wartość absorbancji poniżej 0,800 O.D. z prawidłowym Odczynnikiem B w dobrych warunkach, wskazuje na bardzo dużą aktywność dehydrogenazy mleczanowej w materiale (zużywa całe NADH przed odczytem). W takim przypadku należy rozcieńczyć materiał badany 1/10 solą fizjologiczną, powtórzyć badanie i pomnożyć wyniki przez współczynnik rozcieńczenia.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: równocześnie badanie tej samej próbki powtórzono tego samego dnia i otrzymano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
439 U/l	± 3,64 U/l	0,8 %
919 U/l	± 11,41 U/l	1,2 %

b) Linijność: zakres linijności do 1000 U/l. Jeżeli $\Delta A/\text{min}$ jest wyższa niż 0,120 O.D. (340-334 nm i temp. 37°C), rozcieńczyć materiał badany 1/5 lub 1/10 solą fizjologiczną, powtórzyć badanie i pomnożyć wyniki przez współczynnik rozcieńczenia.

c) Ograniczenie ilościowe metody: ilościowa granica oznaczalności aktywności dehydrogenazy mleczanowej wynosi 24 U/l.

OBLICZENIA

LDH (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x współczynnik

W każdym przypadku należy do obliczeń zastosować odpowiedni współczynnik dla wybranej temperatury (30-37°C lub 25°C) oraz zastosowanej metody (Monoodczynnik lub oddzielne odczynniki) zgodnie z poniższą tabelą:

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania zapoznać się z instrukcją obsługi używanego analizatora automatycznego.

WIENER LAB DOSTARCZA

90 ml: - 2 x 36 ml Odczynnik A

- 2 x 9 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1008114)

100 ml: - 4 x 20 ml Odczynnik A

- 1 x 20 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1521304)

100 ml: - 4 x 20 ml Odczynnik A

- 1 x 20 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009267)

100 ml: - 5 x 20 ml Odczynnik A

- 2 x 12.5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009315)

150 ml: - 2 x 60 ml Odczynnik A

- 2 x 15 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009626)

150 ml: - 2 x 60 ml Odczynnik A

- 2 x 15 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009934)

ŹRÓDŁA


- Société Fran aise de Biologie Clinique (SFBC) - Ann. Biol. Clin. 40:160, 1982.

- Sociedad Espa ola de Qu mica Cl nica - Comité Cient fico, Comisión de Enzimas - Quim. Clin. 57-61, 1989.


- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych uŹywanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wsp lnotcie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawarto c wystarczająca dla <n> bada 

 UŹyc przed

 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamraŹać

 Ryzyko biologiczne

 Obj to c po rozpuszczeniu

 Zawarto c


 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa


 Substancja Źr c


 Substancja draŹni ca

 Przed uŹyciem zapozna c się z instrukcj 


 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. C tola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-110-207



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina