

**LDH-L
ЛАКТАТ ДЕХИДРОГЕНАЗА
КИНЕТИЧЕН МЕТОД****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЛАКТАТ ДЕХИДРОГЕНАЗА В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

LDH катализира окисляването на лактат до пируват в присъствието на NAD който впоследствие се редуцира до NADH. Скоростта на образуване на NADH, измерена при 340 nm е пропорционална на активността на LDH-L в серума.

РЕАГЕНТИ

При разтваряне според инструкциите на опаковката реагентът съдържа:

L-Lactate	75 mM
NAD	5.5 mM
Buffer (pH 9.0 ± 0.1) (30°C)	80mM

нереактивни стабилизатори и пълнители

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реагентите са само за "ин витро" употреба. Трябва да се спазват обичайните предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти, като се избягва пипетиране с уста.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Съхранявайте реагентите при 2-8°C. Разтвореният реагент е стабилен 14 дни в хладилник (2-8°C) и 8 часа при стайна температура. Реагентът трябва да бъде изхвърлен, ако началната абсорбция, измерена при 340 nm на сляпата реагентна проба е по-висока от 0.60 или ако не се получават точните стойности на контролния материал.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Трябва да се използва нехемолизиран серум. Серум с видими признаци на хемолиза не може да се използва, тъй като се е получило замърсяване на пробата с големи количества LDH освободени от еритроцитите. Серумът трябва да се отдели от съсиреците незабавно. Пробите трябва да се изследват скоро след вземането им. LDH в серума е стабилна според литературата 2-3 дни при стайна температура. LDH от черния дроб е особено нестабилна и се унищожава, ако се замрази и полузамрази впоследствие.

ИНТЕРФЕРИРАЩИ СУБСТАНЦИИ

Оксалат, оксамат и EDTA инхибират LDH. В литературата е посочен изчерпателен списък на медикаментите, които могат да окажат интерфериращо въздействие.

ПРОЦЕДУРА ЗА МАНУАЛНА РАБОТА

1. Разтворете реагента според инструкциите.
2. Пипетирайте по 1.0ml от реагента в съответните епруветки и ги оставете да се темперират при 37°C в продължение на 3 минути.
3. Нулирайте спектрофотометъра с вода при 340 nm.
4. Добавете 0.025ml (25µl) от пробата към реагента. Разбъркайте добре и инкубирайте при 37°C в продължение на 1 минута.
5. След една минута отчетете абсорбцията. Върнете епруветката при 37°C. Повторете отчитането на всяка минута през следващите две минути.
6. Изчислете средната разлика в абсорбция на минута ($\Delta Abs/min$).
7. Умножете ($\Delta Abs/min$) по фактор 6592, за да получите резултатите в IU/L.
8. Пробите със стойности над 800 IU/L трябва да бъдат разредени 1:1 с физиологичен разтвор, тествани повторно и резултатите от тях да се умножат по 2.

Забележки:

1. Ако спектрофотометърът е с термостатирана кювета, сместа на реакцията може да бъде оставена в нея до края на отчитанията.
2. Ако спектрофотометърът изисква за точно отчитане крайно количество по-голямо от 1.0 ml, използвайте 3 ml реагент и 0.1 ml проба и в този случай използвайте фактор 4984 за изчислението.

ИЗЧИСЛЕНИЯ

$$IU/L = \frac{\Delta Abs/min \times TV \times 1000}{d \times \epsilon \times SV} = \frac{\Delta Abs/min \times 1.025 \times 1000}{1 \times 6.22 \times 1 \times 0.025}$$

$$= \Delta Abs/min \times 6592$$

Където:

$\Delta Abs/min$	= средната разлика в абсорбцията на минута
TV	= общ обем на реакцията (1.025)
1000	= преизчисление на IU/ml в IU/L
ϵ	= милимоларна абсорбтивност на NADH (6.22)
d	= светлинен път (1cm)
SV	= обем на пробата (0.025ml)

Пример: Ако $\Delta Abs/min = 0.022$ то $0.022 \times 6592 = 145 IU/L$

За да се конвертират резултатите в SI единици (nkat/L), умножете стойността в IU/L по 16.67

Забележка: Ако параметрите на теста се променят, факторът трябва да се преизчисли с горепосочената формула.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Този метод измерва тоталната лактат дехидрогеназа независимо от вида на тъканта или органа, от който произхожда.

Температурата на реакцията трябва да бъде поддържана в рамките на $\pm 0.1^\circ C$.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Мъже: 50-166 IU/L при 30°C.

80-285 IU/L при 37°C.

Жени: 60-132 IU/L при 30°C.

103-227 IU/L при 37°C.

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой диапазон на очаквани стойности.

ТЕМПЕРАТУРНА ПОПРАВКА

1. Ако тестът е извършен при 37°C, но трябва да се отчете при 30°C, умножете резултатите по 0.6.

2. Ако тестът е извършен при 30°C, но трябва да се отчете при 37°C, умножете резултатите по 1.7.

Забележка: Температурните фактори дават само приблизителната конверсия и следователно е препоръчително стойностите да се отчитат при температурата на измерването.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Линейност: 800 IU/L.

2. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с подобен метод даде коефициент на корелация 0.98 и уравнение на регресията $y = 1.06x - 10.68$.

3. Точност:	В серия	Между серии		
Средна стойн.	129.7	365.4	151.6	449.7
Станд. откл.	6.3	27.7	5.5	23.5
C.V.(%)	4.8	7.5	3.6	5.2

RE:12/01

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1