

**LDH BR**

SFBC

Metoda enzimatica UV

CINETIC

Doar pentru utilizarea *in vitro***CONTINUT**

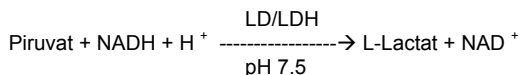
1141010 LDH BR 2 x 50 mL

REF

**PRINCIPIUL**

Dehidrogenaza lactata (LD/LDH) catalizeaza reducerea piruvatului in lactat (P-L) in prezenta de nicotinamida adenina dinucleotida redusa (NADH) la un pH 7.5.

Reactia este monitorizata cinetic la 340 nm de catre rata de scadere a absorbantei rezultata din oxidarea NADH-ului in  $\text{NAD}^+$  proportionala cu activitatea de LD prezent in proba.



Metoda urmareste formula optima propusa de SFBC <sup>1</sup>.

**CONSTITUENTI SI COMPOZITIE**

- R1 LDH substrat.** Solutie tampon TRIS 100 mmol/L pH 7.5, piruvat 2.75 mmol/L, sodiu clorid 222 mol/L
- R2 Coenzima LDH.** NADH 1.55 mmol/L

**CONSERVARE SI STABILITATE**

Se pastreaza la 2-8°C.  
Reactivii sunt stabili pana la data expirarii inscrisa pe eticheta.

**PROBE**

Ser liber de hemoliza separat de eritrocite cat de repede se poate dupa colectare. Folosirea de heparina si citrat ca anticoagulanti au dus la rezultate de activitate LD false crescute.

Congelarea duce la scaderea activitatii enzimei.

**PREPARAREA REACTIVULUI**

**Reactivul de lucru.** Amestecati 4 ml de R1 cu 1 ml de R2. Este stabil timp de 2 luni la 2-8°C. Se fereste de lumina.

Aruncati reactivul in cazul in care prezinta o absorbanta mai mica de 1.200 la 340 nm fata de apa distilata sau in cazul in care nu reuseste sa atinga valorile declarate de serul de control.

**INTERFERENTE**

- Hemoliza duce la eliberarea de Ld din eritrocite in fluidul din corp dand astfel rezultate ridicate false.
- Hiperbilirubinemia nu afecteaza analiza LD-ului.
- Concentratii mari de uree inhiba enzima. <sup>2</sup>

**MATERIALE DE LUCRU**

- Fotometru sau spectrofotometru cu o celula termostata setat la 30/37°C, cu citire la 340 nm.
- Ceas de laborator.
- Cuvete cu drum optic de 1 cm.
- Pipete pentru masurarea reactivului si a probelor.

**METODA DE LUCRU**

1. Preincubati reactivul de lucru, probele si controalele la temperatura reactiei 30/37°C.
2. Setati fotometrul la absorbanta 0 cu apa distilata.
3. Pipetati intr-o cuveta:

Temperatura reactiei	30/37°C
Reactivul de lucru	1.0 mL
Proba sau Control	20 µL

4. Amestecati usor prin inversie. Insetati cuveta in celula terostata si dati drumul la ceasul de laborator.
5. Incubati timp de 30 sec. si notati citirea initiala a absorbantei.
6. Repetati citirea absorbantelor dupa 1, 2 si 3 minute.
7. Calculati diferenta dintre absorbante.
8. Calculati media rezultatelor pentru a obtine schimbul normal al absorbantei pe minut. ( $\Delta A/\text{min}$ )

**METODA DE CALCUL**

$$U/L = \Delta A/\text{min} \times 8095$$

Probele cu  $\Delta A/\text{min}$  de peste 0.150 la 340 nm ar trebui sa fie diluate cu 1 : 10 solutie salina si analizata din nou. Inmultiti rezultatele obtinute cu 10.

In situatia in care rezultatele trebuie sa fie exprimate in unitati Si aplicati formula:

$$U/L \times 0.01667 \mu\text{kat/L.}$$

**VALORI DE REFERINTA <sup>4</sup>**

Ser

Temperatura	37°C	30°C
Adulti	207-414 U/L (3.40-6.80 µkat/L)	140-280 U/L (2.30-4.70 µkat/L)

Se recomanda ca fiecare laborator sa-si stabileasca propriile valori de referinta.

**CONTROL DE CALITATE**

Folosirea de standard in calcularea rezultatelor permite obtinerea unui rezultat corect independent de sistem sau de instrumentalul folosit.

Pentru a asigura calitatea de control adecvata (QC), fiecare rulare ar trebui sa includa un set de controale ( normale sau anormale ) cu valorile de analiza tratate ca necunoscute.

**BC600** MULTISER UMAN NORMAL.  
NIVEL DE LDH SCAZUT. ANALIZA

REF

**BC650** MULTISER UMAN ABNORMAL.  
NIVEL DE LDH CRESCUT. ANALIZA.

REF

**SEMNFICATIA MEDICALA <sup>2,3</sup>**

Activitatea enzimei ce se gaseste in amestecul a cinci isoenzime. Fiecare organ in parte are un profil isoenzimatic caracteristic. Scurgerea acestor enzime din organele bolnave duce la cresterea serului total de LD.

*Nivele crescute* LD devin evidente intr-un interval de 8-12 ore dupa un infarct miocardic atingand cota maxima intr-un interval de 4-5 zile mai tarziu. Valori ridicate de LD in ser sunt de asemenea intalnite in cazul embolismului pulmonar si in cazul unei treimi din pacientii care sufera de boli de rinichi, in special aceia cu pielonefrita sau necroza tubulara. In hepatitele cronice cu icter, boala Hodking si cancer la plamani sau cancer abdominal cresterile sunt foarte mari.

*Cresterile moderate* sunt de asemenea observate in cazul bolilor de ficat, anemii megaloblastice si pernicioase si in cazul distrofiei musculare progresive.

*Scaderile* nu au importanta clinica.

**PERFORMANTELE ANALIZEI**

- **Linearitate.** Pana la 1200 U/L
- **Precizie**

Mg/dL	In timpul analizei*			Intre analize**		
Media	281	1.65	1130	281	430	980
DE	1.3	2.42	2.64	2.3	2.71	3.06
CV%	0.46	0.52	0.23	0.82	0.63	0.31
N	10	10	10	8	8	8

\*Replicati: 10 pentru fiecare nivel

Instrument: CECIL CE 2001

\*\*Replicati: 8 pentru fiecare nivel timp de 4 zile

- **Sensibilitate:** Folosind acest reactiv si metoda  $\Delta A/\text{min}$  la 0.00 citit la 340 nm fata de 10 U/L de activitate de LDH.

- **Corelare:** Aceasta analiza (y) a fost comparata cu o metoda similara comerciala (x). Rezultate obtinute:

$$N = 25 \quad r = 0.997 \quad y = 1.07x + 2.410$$

**REFERINTE**

1. Commission Enzymologie de la Société Française de Biologie Clinique. Ann. Biol. Clin. 40: 123-128 (1982).
2. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4<sup>th</sup> Edition. AACC Press (1995).
3. Tietz, N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup> Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).