

UPOTREBA

Reagens se koristi za kvantitativno određivanje aktivnosti laktat dehidrogenaze (LDH) u serumu ili plazmi.

METODA

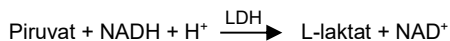
SFBC kinetički UV metod (piruvat → laktat).

KLINIČKI ZNAČAJ

Merenje aktivnosti LDH-a se koristi u dijagnostikovanju i tretmanu infarkta miokarda. LDH se nalazi u humanom serumu u obliku pet izoenzima i to: LD-1, LD-2, LD-3, LD-4, LD-5, označenih na ovaj način prema njihovoj elektroforetskoj pokretljivosti ka anodi. Svaki organ ima karakterističan izoenzimski profil. Promene odnosa LD-1, prema ukupnom LDH, ukazuju na obim lezije i nekrozu miokarda¹.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Piruvat se, u prisustvu koenzima NADH, uz katalitičko dejstvo laktat dehidrogenaze (LDH), redukuje do laktata. Brzina oksidacije NADH direktno je proporcionalna aktivnosti LDH^{2,3}:

**REAGENSI**

LDH, Ref: LDH-250 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 50 mL

SASTAV RADNOG REAGENSA

Aktivne komponente :

Tris pufer pH 7.5	80 mmol/L
NaCl	160 mmol/L
Piruvat	1,4 mmol/L
NADH	≥ 0,28 mmol/L
Stabilizatori i konzervansi	

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens se priprema mešanjem 4 zapremine Rg.1 i jedne zapremine Rg.2.

Start supstratom : Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens stabilan je 30 dana ako se čuva na 2 - 8°C.

Start supstratom : reagensi u originalnom pakovanju su stabilni do isteka označenog roka ako se čuvaju na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan serum ili plazmu pripremljenu sa heparinom ili EDTA.

Stabilnost :	1 dan na 20-25 °C
	2 dana na 4-8 °C
	8 nedelja na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analitički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	340/405 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	30, 37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 50
Reakcija :	Kinetička
Inicijalna A reagensa :	> 0.9 Abs

Start uzorkom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	20 µL
Radni reagens	1000 µL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A₀), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A₁, A₂, A₃) na 340 nm.

Start supstratom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	20 µL
Rg.1	800 µL

Promešati, a zatim dodati:

Rg.2	200 µL
------	--------

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A₀), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A₁, A₂, A₃) na 340 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$\Delta A_1 = A_1 - A_0 \quad \Delta A_2 = A_2 - A_1 \quad \Delta A_3 = A_3 - A_2$$

$$\Delta A = (\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3) / 3$$

$$C = \Delta A * 8095 \text{ (U/L)}$$

Navedena je teorijska vrednost faktora za izračunavanje. Preporuka je da se reagens kalibriše odgovarajućim kalibratorom.

REFERENTNE VREDNOSTI

	30° C	37° C
Odrasle osobe	160 - 320 U/L	230 - 460 U/L

Na referentne vrednosti utiče (pored drugih faktora) starosna struktura i etnički sastav populacije. Zato se preporučuje da svaka laboratorija odredi sopstvene referentne vrednosti.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 20 do 1200 U/L LDH.

Ukoliko je aktivnost LDH veća od 1200 U/L razblažiti uzorak (1+ 4) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 5.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 7 U/L

LoQ = 20 U/L

Osetljivost određivanja (S)

S=A/c=0,124 ΔmAbs po U/L

Interferencije

Na određivanje LDH ne utiču sledeće supstance:

bilirubin	c < 1000 μmol/L (58,5 mg/dL)
hemoglobin	c < 1,25 g/L
trigliceridi	c < 22,6 mmol/L (2000 mg/dL).

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 160,43	Sd = 4,89	KV =3,05 %
Uzorak 2	Xsr = 505,64	Sd = 10,30	KV =2,04 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 158,93	Sd = 5,98	KV =3,76 %
Uzorak 2	Xsr = 503,86	Sd = 10,94	KV =2,17 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{4,5} između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzorka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$$y = 0,9956 x + 0,7396$$

$$r = 0,9992$$

LITERATURA

1. L. Thomas ed. Labor und Diagnose, 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992.
2. B. Štraus, Medicinska Biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
4. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.
5. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____