



## DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64  
Тел.: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com  
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

### LDH-DAC.Lq

#### АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ КИНЕТИЧЕСКИЙ-ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Только для диагностики «in vitro»

Хранить при 2-8°C

Код 2044L50 50 ml  
Код 2044L200 200 ml

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Лактатдегидрогеназа (LDH) катализирует восстановление пирувата с образованием лактата и NAD<sup>+</sup>.

Уменьшение абсорбции NADH, измеренной при длине волны 340(334-365) nm, пропорционально активности LDH<sup>1,2</sup>.

Пируват + NADH + H<sup>+</sup>  $\xrightarrow{LDH}$  Лактат + NAD<sup>+</sup>

#### СОСТАВ НАБОРА

Reagent A	pH 7,5
Фосфатный буфер	56 mmol/l
Пируват	1,6 mmol/l
Натрия азид	1 g/l
Reagent B	
NADH	2,40 mmol/l
Натрия азид	1 g/l

**Внимание!** Не пипетировать ртом!

#### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты при 2-8°C стабильны до срока, указанного на этикетке.

**Признаки непригодности:** абсорбция Рабочего Реагента менее 1,1 при 334 nm (кюветы на 1 cm).

#### ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка, свободная от гемолиза.  
Лактатдегидрогеназа в сыворотке при 2-8°C стабильна 24 часа.

#### РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Сыворотка<sup>6</sup>: LDH 240 – 480 U/l.

Данные величины ориентировочны, рекомендуется определение собственных нормальных величин в каждой лаборатории.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические контрольные сыворотки (уровень I и II).

Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или термостатирующий фотометр 37°C с фильтром 340(334-365) nm.

Дозаторы на 25 µl, 50 µl и 1,0 ml. Таймер.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Данный набор предназначен только для диагностики in vitro.

Образцы анализов пациентов должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.

При использовании набора следует соблюдать правила безопасности при работе с едкими и ядовитыми веществами.

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА

Рабочий реагент приготовить из расчета: 1 ml Reagent A + 1 ml Reagent B.

Рабочий Реагент стабилен 4 недели при 2-8°C.

#### ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод: кинетический (понижающий)

Длина волны: 340 (334-365) nm

Температура: 37°C

Бланк: по дистиллированной воде

**Внимание!** Объемы реагентов и образцов могут быть пропорционально изменены в соответствии с рабочим объемом кюветы анализатора.

При проведении процедуры определения использовать новую посуду.

#### Метод А

1. Доведите температуру Рабочего реагента и фотометра до температуры реакции (37°C).

2. Внесите в кювету с длиной оптического пути 1 cm:

Рабочий реагент 1,0 ml  
Образец 25 µl

3. Смешайте и поместите кювету в фотометр. Включите секундомер.

4. Спустя 1 минуту измерьте начальную абсорбцию против дистиллированной воды, затем измеряйте абсорбцию через каждую 1 минуту в течение 3 минут.

5. Вычислите разницу между последовательными абсорбциями и среднюю разницу абсорбции за 1 минуту (ΔA/min).

#### Метод В

1. Доведите температуру Reagent A, Reagent B и фотометра до температуры реакции (37°C).

2. Внесите в кювету с длиной оптического пути 1 cm:

Reagent A 1,0 ml  
Образец 50 µl

3. Смешайте, инкубируйте 1 минуту и внесите в кювету:

Reagent B 1,0 ml

4. Смешайте и поместите кювету в фотометр. Включите секундомер.

5. Спустя 1 минуту измерьте начальную абсорбцию против дистиллированной воды, затем измеряйте абсорбцию через каждую 1 минуту в течение 3 минут.

6. Вычислите разницу между последовательными абсорбциями и среднюю разницу абсорбции за 1 минуту (ΔA/min).

#### ВЫЧИСЛЕНИЯ

Содержание LDH в образце определить по формуле:

$$\frac{\Delta A / \text{min}_{\text{Об}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{Cr}}} \times C_{\text{Cr}} = C_{\text{Об}}$$

**Вычисление по фактору:**

334 nm: Активность (U/l) = ΔA/min<sub>Об</sub> x 8252

340 nm: Активность (U/l) = ΔA/min<sub>Об</sub> x 8450

#### МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**Предел чувствительности:** 0,001 ΔA/min=8,252 U/l.

**Предел линейности:** 0,145 ΔA/min=1200 U/l.

**Воспроизводимость** (от периода к периоду):

Средняя концентрация	CV*	n*
344,6 U/l	0,99 %	25
523,6 U/l	3,27 %	25

\*CV – коэффициент вариации; n – количество определений.

**Интерференция:** Билирубин до 855 µmol/l (0,5 g/l), липиды до 10 g/l, глюкоза до 55,5 mmol/l (10 g/l) и аскорбиновая кислота до 2,84 mmol/l (0,5 g/l) не влияют на результат определения<sup>6</sup>.

Лекарственные препараты и субстанции могут влиять на результат определения<sup>7</sup>.

#### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Лактатдегидрогеназа присутствует во всех клетках организма, но наиболее высокое содержание обнаруживается в печени, сердце, почках, скелетной мускулатуре и эритроцитах. Содержание LDH в сыворотке или плазме повышается при мегалобластной, гемолитической, серповидно-клеточной и пернициозной анемиях, неоплазии, лейкомии, лимфоме, интенсивном карциноматозе, шоке, гипоксии, крайней гипертермии, циррозе, механической желтухе, гепатитах, почечных заболеваниях многих форм, инфаркте почки, инфаркте миокарда и легкого, болезни скелетной мускулатуры, застойной сердечной недостаточности, любом повреждении клеток, которое приводит к потере цитоплазмы, острым панкреатите<sup>4,5</sup>. Пониженный уровень ЛДГ наблюдается при генетически обусловленном дефиците субъединиц H и M.



## DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, or. Chişinău, str. Armenească 47, ap. 64  
Tel.: /+37322/ 574900, 574922/23; fax: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com  
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

### LDH-DAC.Lq

#### ACTIVITĂȚI LACTATDEHIDROGENAZEI (LDH) CINETIC-FOTOMETRIC METODA

Numai pentru diagnosticare «in vitro»

A se păstra la 2-8°C

Cod 2044L50 50 ml  
Cod 2044L200 200 ml

#### PRINCIPIUL METODEI

Lactatdehidrogenaza (LDH) catalizează reducerea piruvatului cu formarea lactatului și NAD<sup>+</sup>.

Diminuarea absorbției NADH, măsurată la 340(334-365) nm, este proporțională activității LDH<sup>1,2</sup>.

Piruvat + NADH + H<sup>+</sup>  $\xrightarrow{LDH}$  Lactat + NAD<sup>+</sup>

#### COMPONENȚA SETULUI

Reagent A	pH 7,5
Tampon, fosfați	56 mmol/l
Piruvat	1,6 mmol/l
Azid de sodiu	1 g/l
Reagent B	
NADH	2,40 mmol/l
Azid de sodiu	1 g/l

**Toxic!** Pipetarea orală este inadmisibilă!

#### PĂSTRAREA ȘI STABILITATEA REAGENȚILOR

Reagenții la 2-8°C sunt stabili până la data indicată pe etichetă.

Semne de deteriorare: absorbția Reagentului de lucru sub 1,1 la 334 nm (cuva 1 cm).

#### PROBE

Ser. Nu se va utiliza ser hemolizat.

Lactatdehidrogenaza în ser este stabilă la 2-8°C 24 ore.

#### VALORI DE REFERINȚĂ

Ser<sup>6</sup>: LDH 240 – 480 U/l.

Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în laboratorului dat.

#### CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul mersului reacției și a procedurii de măsurare se recomandă de folosit seruri normale și patologice pentru control (nivelul I și II).

Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

#### ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Analizor, spectrofotometru sau fотометру cu filtrul 340(334-365) nm termostatic la 37°C.

Dozatoare 25 µl, 50 µl și 1,0 ml. Taimer.

#### PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro. Probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analogic celor contagioase.

La utilizarea setului se vor respecta regulile de securitate prevăzute pentru lucrul cu substanțe toxice.

#### PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

Reagentul de lucru se va prepara din calculul: 1 ml Reagent A + 1 ml Reagent B.

Reagentul de lucru este stabil la 2-8°C 4 săptămâni.

#### MOD DE LUCRU

Metoda: kinetic (reducerea)

Lungimea de undă: 340(±10) nm

Temperatura: 37°C

Instalarea zero: după apă distilată

**Внимание!** Volumul reagentului, standardului și probei pot fi schimbate proporțional conform volumului de lucru a cuvei analizatorului.

#### Metoda A

1. Reagentul de lucru și fотометру se vor încălzi până la temperatura reacției (37°C).

2. Se va pipeta în cuva de 1 cm:

Reagent de lucru 1,0 ml  
Proba 25 µl

3. Se va amesteca, cuva se va inserta în fотометру. Se va declara fотометру.

4. Peste 1 minut se va măsura absorbția inițială contra apei distilate, apoi se va măsura absorbția cu intervale de 1 minut pe parcursul a 3 minute.

5. Se va calcula diferența dintre absorbțiile consecutive și diferența medie a absorbției pe minut (ΔA/min).

#### Metoda B

1. Reagentul A, Reagentul B și fотометру se vor încălzi până la temperatura reacției (37°C).

2. Se va pipeta în cuva de 1 cm:

Reagent A 1,0 ml  
Proba 50 µl

3. Se va amesteca, se va incuba 1 minut și se va adăuga în cuvă:

Reagent B 1,0 ml

4. Se va amesteca, cuva se va plasa în fотометру. Se va declara fотометру.

5. Peste 1 minut se va măsura absorbția inițială contra apei distilate, apoi se va măsura absorbția cu intervale de 1 minut pe parcursul a 3 minute.

6. Se va calcula diferența dintre absorbțiile consecutive și diferența medie a absorbției pe minut (ΔA/min).

#### CALCUL

Conținutul LDH în probă se va determina utilizând formula:

$$\frac{\Delta A / \text{min}_{\text{Pr}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{St}}} \times C_{\text{St}} = C_{\text{Pr}}$$

Calcul utilizând factorul:

334 nm: Activitatea (U/l) = ΔA/min<sub>Pr</sub> x 8252

340 nm: Activitatea (U/l) = ΔA/min<sub>Pr</sub> x 8450

#### CARACTERISTICI METROLOGICE

Limite sensibilității: 0,001 ΔA/min=8,252 U/l

Limite linearității: 0,145 ΔA/min=1200 U/l.

Reproductibilitatea de la perioadă la perioadă:

Concentrația medie	CV*	n*
344,6 U/l	0,99 %	25
523,6 U/l	3,27 %	25

\*CV – coeficientul de variație; n – numărul de determinări.

**Interferențe:** Bilirubină până la 855 µmol/l (0,5 g/l), lipide până la 10 g/l, glucoză până la 5,5 mmol/l (10 g/l) și acidul ascorbic până la 2,84 mmol/l (0,5 g/l) nu influențează determinarea<sup>6</sup>. Se va ține cont de posibila interferență medicamentoasă, cit și de interferența altor substanțe<sup>9</sup>.

#### CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Lactatdehidrogenaza este prezentă în toate celulele iar concentrația mai sporită se atestă în ficat, inimă, rinichi, mușchii scheletici și eritrocite. Concentrația LDH în ser și plasmă se mărește în caz de anemie megaloblastică, hemolitică, drepanocitară și pernicioasă, neoplazii, leucemie, limfomă, carcinomatoze intense, șoc, hipoxii, hipertermie, ciroză, icter mecanic, hepatite, boli renale, infarct renal, infarct miocardic și pulmonar, boli a musculaturii scheletice, insuficiență cardiacă lentă, lezarea celulelor, care conduce la pierderi de citoplasmă, pancreatită acută<sup>4,5</sup>. Nivelul scăzut de LDH se atestă în caz de insuficiență genetică de subunități H și M.



## DAC-SPECTROMED SRL

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova  
Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920

Email: [office@dacspectromed.com](mailto:office@dacspectromed.com)

[www.dacspectromed.com](http://www.dacspectromed.com)

PT MD 11-38623324-002:2002

### LDH-DAC. Lq

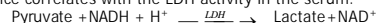
LACTATE DEHYDROGENASE (LDH)  
KINETIC DGKC METHOD

For « in vitro » use only  
Store at 2-8°C

Cod 2044L50 50 ml  
Cod 2044L200 200 ml

#### PRINCIPLE

LDH catalyses the transformation of Pyruvate to Lactate in the presence of NADH coenzyme. The transformation of NADH to NAD<sup>+</sup> is accompanied by a decrease in absorbance at 340 nm. The change in absorbance correlates with the LDH activity in the serum.



#### CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent A	pH 7.5
Phosphate buffer	56 mmol/l
Pyruvate	1.6 mmol/l
Sodium azide	1 g/l
Reagent B	
NADH	240 µmol/l
Sodium azide	1 g/l

Harmful! Harmful if swallowed.

#### STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents are stable at 2-8°C until the expiry date shown on the label.

Indications of deterioration:

Presence of particulate material, turbidity, absorbance of the blank lower than 1,100 at 340(334-365) nm (1 cm cuvette).

#### SAMPLES

Serum free of hemolysis.

LDH in serum is stable for 24 hours at 2-8°C.

#### REFERENCE VALUES

Serum lactate dehydrogenase activity: 240-480 U/l

Concentrations in newborns and infant are higher than in adults.

Values in men are slightly higher than in women.

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

#### QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Sera N and Sera P to verify the performance of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

#### ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer or photometer with cell holder thermostatable at 37°C and able to read at 340(334-365) nm.

#### PRECAUTION

The kit is only for in vitro use.

However, all the compounds based on human serum and patient serum specimens must be handled as potentially dangerous and treated as infectious.

#### REAGENT PREPARATION AND STABILITY

One-reagent procedure:

Mix 1 volume of Reagent A with 1 volume of Reagent B

Stability: at 2-8 °C: 4 weeks

#### PROCEDURE

Assay conditions

Wavelength: 340 (334-365) nm

Temperature: 37 °C

Cuvette: 1 cm light path

Read against: distilled water

Method: kinetic (decreasing)

One-reagent procedure:

1. Bring the Working Reagent and the instrument to reaction temperature.

2. Pipette into a cuvette:

Working reagent, ml 1

Sample, µl 25

3. Mix and after 1 minute incubation, measure the change of optical density per minute (ΔA/min) during 3 minutes.

4. Calculate the difference between consecutive absorbencies, and the average absorbance difference per minute (ΔA/min).

Two-reagent procedure:

1. Pipette into a cuvette:

Reagent A, ml 1

Sample, µl 50

2. Mix and after 1 minute incubation, add:

Reagent B, ml 1

3. Mix and after 1 minute incubation, measure the change of optical density per minute (ΔA/min) during 3 minutes.

4. Calculate the difference between consecutive absorbencies, and the average absorbance difference per minute (ΔA/min).

#### CALCULATIONS

Calculation using calibration

$$\frac{\Delta A / \text{min}_{\text{Sample}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{Stand}}} \times C_{\text{Stand}} = C_{\text{Sample}}$$

Calculation using factor

334 nm: Activity (U/l) = ΔA/min x 8252

340 nm: Activity (U/l) = ΔA/min x 8450

#### METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Detection limit: 0,001 ΔA/min=8.252 U/l

Linearity limit: 0,145 ΔA/min=1200 U/l

For higher values dilute sample 1/10 with distilled water and repeat measurement.

Repeatability (run to run):

Mean Concentration, U/l	CV, %	n
344.6	0.99	25
523.6	3.27	25

Interferences:

Bilirubin (up to 0.5 g/l), lipids up to 10 g/l, glucose up to 10 g/l, ascorbic acid up to 0.5 g/l does not interfere.

Hemolysis may affect the results. Other substances and drugs may interfere<sup>5</sup>.

These metrological characteristics have been obtained using an analyzer. Results may vary if a different instrument or manual procedures are used.

#### DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Lactate dehydrogenase (LDH) is present in every cell, it is a tetramere molecule which is a combination of two different tissue components (M-muscle, H-heart).

There are five different isoenzymes:

LDH-1: LDH-2: LDH-3: LDH-4: LDH-5 = 20: 34: 23: 12: 11.

The serum activity is mainly composed of LDH-1, LDH-2 derived from the myocardium and red blood cells, and LDH-5 derived from the liver.

The activities of isoenzymes are different in cases of certain substrates. The inhibitors and pH sensitivities are different.

The various fractions were determined using chromatography in the past but more recently electrophoresis is the method of choice.

The ratio of isoenzymes indicates certain disease states.

The enzyme activity significantly increases 8-12 hours following a myocardial infarction and declines after 4-5 days.

There is an increase in liver diseases, in certain anaemia and tissue injuries.

#### BIBLIOGRAPHY

1. Sociedad Espanola de Quimica Clinica, Comite Cientifico, Comision de Enzimas Metodo recomendado para la determinacion en rutina de la concentracion catalitica de lactato deshidrogenasa en suero sanguineo humano. Quim Clin 1989; 8: 57-61.

2. Scientific Committee. Recommendations pour la mesure de la concentration catalitique de la lactate deshydrogenase dans le serum humain a 300C. Ann Biol Clin 1982; 40: 87-164.

3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACC Press, 1997.

4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.

5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACC Press, 1997.

6. Ahh. Biol. Clin. 1982; 40:123.