

LDH FS*

DGKC 1970

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von Lactatdehydrogenase (LDH) in Serum oder Plasma an photometrischen Systemen

Bestellinformation

Bestell-Nr.	Packungsgröße
1 4201 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL
1 4201 99 10 026	R1 5 x 80 mL + R2 1 x 100 mL
1 4201 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL
1 4201 99 10 704	R1 8 x 50 mL + R2 8 x 12,5 mL
1 4201 99 10 917	R1 8 x 60 mL + R2 8 x 15 mL
1 4201 99 90 305	R1 10 x 12 mL + R2 2 x 20 mL

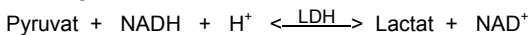
Zusammenfassung [1,2]

Lactatdehydrogenase (LDH) ist ein Enzym, das aus fünf Isoenzymen besteht und die reversible Umwandlung von L-Lactat zu Pyruvat katalysiert. LDH liegt im Cytoplasma allen menschlichen Gewebes vor, mit höheren Konzentrationen in Leber, Herz und Skelettmuskulatur und niedrigeren Werten in Erythrozyten, Pankreas, Nieren und Magen. Erhöhte LDH-Aktivitäten treten bei einer Reihe pathologischer Zustände wie Myokardinfarkt, Leber-, Muskel-, hämatologischen und malignen Erkrankungen auf. Wegen der fehlenden Spezifität von LDH ist für eine Differentialdiagnose die Bestimmung der LDH-Isoenzyme oder anderer Enzyme wie alkalischer Phosphatase oder ALAT/ASAT notwendig.

Methode

Optimierter Test nach DGKC (Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie) [3].

Prinzip



Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1:	Phosphatpuffer	pH 7,5	64 mmol/L
	Pyruvat		0,80 mmol/L
R2:	Good's Puffer	pH 9,6	
	NADH		1,0 mmol/L

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Die Reagenzien sind bei 2 – 8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn nach dem Öffnen der Flaschen Kontaminationen vermieden werden. Reagenzien nicht einfrieren!

Reagenz 2 vor Lichteinstrahlung schützen!

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Die Reagenzien enthalten Natriumazid (0,95 g/L) als Konservierungsmittel. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [7].
- Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
- Nur für professionelle Anwendung!

Entsorgung

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Vorbereitung der Reagenzien

Substratstart

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Probenstart

4 Teile R1 + 1 Teil R2 mischen

(z.B. 20 mL R1 + 5 mL R2) = Gebrauchsreagenz.

Haltbarkeit: 5 Tage bei 2 – 8 °C
8 Stunden bei 15 – 25 °C

Das Gebrauchsreagenz vor Lichteinstrahlung schützen!

Zusätzlich benötigte Materialien

NaCl-Lösung 9 g/L

Übliche Laborausrüstung

Probenmaterial

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma

Stabilität [4]:

4 Tage bei 20 – 25 °C
6 Wochen bei 4 – 8 °C

Kontaminierte Proben verwerfen!

Testschema

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Wellenlänge	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	25 °C/30 °C/37 °C
Messung	Gegen Luft

Substratstart

Temperatur	25 °C/30 °C	37 °C
Probe/Kalibrator	20 µL	10 µL
Reagenz 1	1000 µL	1000 µL
Mischen, ca. 1 – 5 Min. inkubieren, dann zufügen:		
Reagenz 2	250 µL	250 µL
Mischen, Extinktion nach 1 Min. ablesen und Stopp-Uhr starten. Extinktion wieder nach 1, 2 und 3 Min. ablesen.		

Probenstart

Temperatur	25 °C/30 °C	37 °C
Probe/Kalibrator	20 µL	10 µL
Gebrauchsreagenz	1000 µL	1000 µL
Mischen, Extinktion nach 1 Min. ablesen und Stopp-Uhr starten. Extinktion wieder nach 1, 2 und 3 Min. ablesen.		

Berechnung

Mit Faktor

Aus den abgelesenen Extinktionen wird $\Delta E/\text{min}$ berechnet und mit dem entsprechenden Faktor aus der folgenden Tabelle multipliziert:

$\Delta E/\text{min} \times \text{Faktor} = \text{LDH-Aktivität [U/L]}$

Substratstart	25 °C/30 °C	37 °C
340 nm	10080	20000
334 nm	10275	20390
365 nm	18675	37060
Probenstart	25 °C/30 °C	37 °C
340 nm	8095	16030
334 nm	8250	16345
365 nm	15000	29705

Mit Kalibrator

$$\text{LDH [U/L]} = \frac{\Delta E/\text{min Probe}}{\Delta E/\text{min Kalibrator}} \times \text{Konz. Kalibrator [U/L]}$$

Umrechnungsfaktor

$$\text{LDH [U/L]} \times 0,0167 = \text{LDH [\mu kat/L]}$$

Kalibratoren und Kontrollen

Für die Kalibrierung von automatisierten photometrischen Systemen wird der DiaSys TruCal U Kalibrator empfohlen. Diese Methode ist rückführbar auf den molaren Extinktionskoeffizienten. Für die interne Qualitätskontrolle sollten DiaSys TruLab N und P Kontrollen gemessen werden. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Leistungsmerkmale

Messbereich

An automatisierten Systemen ist der Test zur Bestimmung von LDH-Aktivitäten bis 1200 U/L geeignet.

Bei manueller Bestimmung ist der Test für LDH-Aktivitäten geeignet, die maximal einem $\Delta E/\text{min}$ von 0,15 bei 340 und 334 nm oder von 0,08 bei 365 nm entsprechen.

Wird dieser Wert überschritten, sollen die Proben 1+10 mit NaCl-Lösung (9 g/L) verdünnt und das Ergebnis mit 11 multipliziert werden.

Spezifität/Interferenzen

Es treten keine Interferenzen mit Ascorbinsäure bis 30 mg/dL, Bilirubin bis 40 mg/dL und Lipämie bis 2000 mg/dL Triglyceride auf. Hämolyse stört, da LDH aus Erythrozyten freigesetzt wird. Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS [5].

Testempfindlichkeit/Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze beträgt 5 U/L.

Präzision (bei 25 °C)

In der Serie n = 20	Mittelwert [U/L]	Standard- abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1	142	5,50	3,86
Probe 2	245	4,95	2,01
Probe 3	497	8,39	1,69

Von Tag zu Tag n = 20	Mittelwert [U/L]	Standard- abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1	144	3,09	2,13
Probe 2	248	4,53	1,82
Probe 3	492	6,23	1,26

Methodenvergleich

Bei einem Vergleich von DiaSys LDH FS (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 78 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,03 x + 2,13 \text{ U/L}; r = 0,999.$$

Referenzbereiche [6]

	25 °C	30 °C	37 °C	Einheit
Erwachsene:	< 240	< 346	< 480	[U/L]
	< 4	< 5,77	< 8	[μkat/L]

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenz-bereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

1. Thomas L. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.89–94.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. 617-721.
3. Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie. Empfehlungen der deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC). Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. Z Klin Chem Klin Biochem 1972;10:182-92.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 36-7.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Fischbach F, Zawta B. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klin Lab 1992;38:555-61.
7. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240–1243.

Hersteller



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland