

LDH LIQUIDA

METODO SFBC

Para la determinación "in vitro" de la Lactato Deshidrogenasa en suero o plasma



Principio



Reactivos

Kit 1 x 50 ml. (Ref. 99 18 18). Contiene:

- A. 1 x 40 ml. Disolución tampón. Ref. 99 13 74
B. 1 x 10 ml. NADH tamponado. Ref. 99 32 19

Kit 1 x 125 ml. (Ref. 99 00 35). Contiene:

- A. 1 x 100 ml. Disolución tampón. Ref. 99 00 40
B. 1 x 25 ml. NADH tamponado. Ref. 99 00 45

Reactivo de trabajo

Los reactivos **A** y **B**, están listos para su uso. En caso de que se quiera trabajar como **Monorreactivo**: mezclar los volúmenes deseados, pero manteniendo la proporción 4 partes de **A** (Disol. tampón) + 1 parte de **B** (NADH tamponado).

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Tampón Tris-HCl pH 7,2	80 mM
Piruvato sódico	1,6 mM
NaCl	200 mM
NADH	0,20 mM
Estabilizantes y conservantes	

Conservación y estabilidad

Los componentes del kit almacenados en refrigerador a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez mezclados los componentes **A** y **B**, dicha disolución monorreactiva es estable 4 semanas mantenida a 2-8°C y 1 semana a temperatura ambiente ($\leq 25^\circ\text{C}$), siempre que se mantenga al abrigo de la luz.

Muestra

Suero o plasma con heparina como anticoagulante. Utilizar muestras exentas de hemólisis. El enzima en suero es estable durante 2 días en refrigerador a 2-8°C.

Las muestras congeladas se inactivan rápidamente.

	30°C / 37°C
Técnica Monorreactivo	ml
R. de trabajo	1,0
Muestra	0,02
Mezclar y poner en marcha el cronómetro.	
Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1, 2, 3 min.	
Técnica Birreactivo	ml
Disol. tampón (A)	1,0
Muestra	0,02
Mezclar e incubar aprox. 1 min.	
Seguidamente añadir:	
NADH (B)	0,25
Mezclar y poner en marcha el cronómetro.	
Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1, 2, 3 min.	
Lectura	
Longitud de onda: Hg334 nm; 340 nm; Hg365 nm.	
Blanco: Agua.	
Cubeta: termostatzada, 1 cm de paso de luz.	
Cálculos	
Determinar la $\Delta E/\text{min.}$ obtenida en cada lectura	
Y hallar el valor medio.	
$U/L = (\Delta E/\text{min.}) \times \text{Factor.}$	



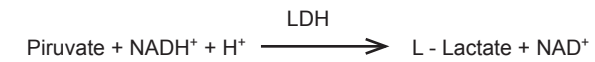
LDH LIQUID

SFBC METHOD

For "in vitro" determination of Lactate Dehydrogenase in serum or plasma



Principle



Reagents

Kit 1 x 50 ml. (Ref. 99 18 18). Contents:

- A. 1 x 40 ml. Buffer solution. Ref. 99 13 74
B. 1 x 10 ml. Buffered NADH. Ref. 99 32 19

Kit 1 x 125 ml. (Ref. 99 00 35). Contents:

- A. 1 x 100 ml. Buffer solution. Ref. 99 00 40
B. 1 x 25 ml. Buffered NADH. Ref. 99 00 45

Working reagent

Reagents **A** and **B** are ready-to-use. If a **Monoreagent** procedure is preferred, then the reagents must be mixed in the ratio: 4 parts of **A** (Buffer solution) + 1 part of **B** (Buffered NADH).

The concentrations in the reagent solution are:

Tris-HCl buffer pH 7.2	80 mM
Sodium pyruvate	1.6 mM
NaCl	200 mM
NADH	0.20 mM
Stabilizers and preservatives	

Storage and stability

The components of the kit, stored at 2-8°C, will remain stable until the expiration date stated on the label. The **Monoreagent** is stable for 4 weeks at 2-8°C and for 1 week at room temperature ($\leq 25^\circ\text{C}$), when protected from the sunlight.

Sample

Serum, heparinized plasma. Samples free from hemolysis should be used. The enzyme in serum is stable for 2 days at 2-8°C. Frozen samples are rapidly inactivated.

	30°C / 37°C
Monoreagent procedure	ml
Working Reagent	1.0
Sample	0.02
Mix, read the absorbance after 1 min. and start the stopwatch. Read again the absorbance after 1, 2 and 3 min.	
Técnica Birreactivo	ml
Buffer solution (A)	1.0
Sample	0.02
Mix, incubate for approx. 1 min., then add:	
NADH (B)	0.2
Mix, read the absorbance after 1 min. and start the stopwatch. Read again the absorbance after 1, 2 and 3 min.	
Reading	
Wavelength: Hg 334 nm; 340 nm; Hg 365 nm.	
Blank: Water.	
Cuvette: Thermostatzated, 1 cm light-path.	
Calculations	
Determine the $\Delta E/\text{min.}$ for every reading and find the mean value.	
$U/L = (\Delta E/\text{min.}) \times \text{Factor.}$	



Caution

The reagent contains Sodium azide at 0.09%. Handle with care. The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

Performances Characteristics

Linearity: Up to $\Delta E/\text{min.}$ of 0.150 (at 340 and 334 nm) or of 0.080 (at 365 nm). For higher values it is recommended to dilute the sample 1/10 with normal saline and assay it once again. Multiply the final result by 10. The analytical characteristics of the product depend both on the reagent and on the reading system used, manual or automatic. The following data have been obtained manually.

Intraseres Variation Coefficient: 1.90%
Interseres Variation Coefficient: 2.14%
Recovery: 98.8 %.

It is recommended to use heparin as anticoagulant. Others, like citrate, oxalate, or fluoride may interfere with the test. Hemolized samples will give false results.

When assaying high activity samples, a very low initial absorbance can be found, which is mainly due to the rapid consumption of the NADH at the early stage of the reaction. In such a case, dilute the sample with saline (NaCl 0.9 %) and assay it once again.

Quality control

Seriscann Normal (Normal Control Serum) (Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Abnormal Control Serum) (Ref. 99 46 85).

Autoanalyzers

Technical bulletins for different analyzers, are available upon request.

References

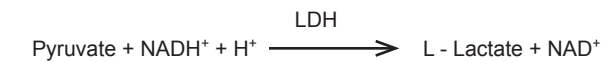
Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N. (1968) Clin. Chem., 14, 740 - 753.
Comission Enzymologie de la Societé Française de Biologie Clinique. (1982) Ann. Biol. Clin., 40, 123 - 128.
Methods of Enzymatic Analysis. (1983) 3rd edition, VIII, 118 - 126, Editado por H.U. Bergmeyer Verlag Chemie.

LDH LIQUIDE

MÉTHODE SFBC

Pour la détermination in vitro de la lactate déshydrogénase dans le sérum ou le plasma

Principe



Réactifs

Kit 1 x 50 ml (Réf. 99 18 18). Contenu:

A. 1 x 40 ml Solution tampon.	Réf. 99 13 74
B. 1 x 10 ml NADH tamponnée.	Réf. 99 32 19

Kit 1 x 125 ml (Réf. 99 00 35). Contenu:

A. 1 x 100 ml Solution tampon.	Réf. 99 00 40
B. 1 x 25 ml NADH tamponné.	Réf. 99 00 45

Réactif de travail

Les réactifs **A** et **B** sont prêts à l'emploi. En cas d'utilisation de la technique en mode **Monoréactif**, mélanger les volumes souhaités, mais en maintenant la proportion 4 volumes de **A** (solution tampon) + 1 volume de **B** (NADH tamponné).

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Tampon Tris-HCl pH 7,2	80 mM
Pyruvate de sodium	1,6 mM
NaCl	200 mM
NADH	0,20 mM
Stabilisants et conservateurs	

Conservation et stabilité

Conservés au réfrigérateur entre 2 et 8 °C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois les composants **A** et **B** mélangés, cette solution monoréactive est stable pendant 4 semaines entre 2 et 8 °C et 1 semaine à température ambiante (≤ 25 °C), toujours à l'abri de la lumière.

Échantillon

Sérum ou plasma avec l'héparine comme anticoagulant. Utiliser des échantillons exempts d'hémolyse. L'enzyme est stable dans le sérum pendant 2 jours au réfrigérateur entre 2 et 8 °C. La congélation inactive rapidement les échantillons.

	30 °C / 37 °C
Technique Mode Monoréactif	ml
R. de travail	1,0
Échantillon	0,02
Mélanger puis mettre en marche le chronomètre. Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances toutes les minutes pendant 3 minutes.	
Technique Mode Biréactif	ml
Solution tampon (A)	1,0
Échantillon	0,02
Mélanger et incuber pendant environ 1 minute. Ajouter ensuite:	
NADH (B)	0,25
Mélanger puis mettre en marche le chronomètre. Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances toutes les minutes pendant 3 minutes.	
Lecture	
Longueur d'onde: Hg 334 nm, 340 nm et 365 nm Blanc: eau Cuvette: thermostatée de 1 cm de trajet optique.	
Calculs	
Déterminer la valeur ΔE/min obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne. U/l = (ΔE/min) x facteur	

FACTOR	
Mode Monoréactif	
334 nm	8252
340 nm	8095
365 nm	15000
Mode Biréactif	
334 nm	10275
340 nm	10080
365 nm	18675
Valeurs normales	
Adultes	200- 400 U/L

Précautions d'emploi

Le réactif contient de l'azide de sodium à 0,09 %. Manipuler avec précaution. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

Fonctionnement et caractéristiques de performance du dispositif

Linéarité: jusqu'à la valeur ΔE/min de 0,150 (à 340 et 334 nm) ou de 0,080 (à 365 nm). Pour des valeurs supérieures, il est conseillé de diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9 %) et de répéter l'essai. Multiplier le résultat par 10.

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Une technique manuelle a permis d'obtenir les données suivantes:

Coefficient de variation dans la série: 1,90 %
Coefficient de variation entre les séries: 2,14 %
Exactitude: le pourcentage de récupération est de 98,8 %.

Il est conseillé d'utiliser l'héparine comme anticoagulant. Les anticoagulants de type citrate, oxalate, fluorure et iodoacétate interfèrent avec l'essai. Les échantillons à très haute activité peuvent produire une réaction très rapide avec des extinctions initiales basses, car le NADH est consommé pendant la première minute de la réaction. Dans ces cas, diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9 %) et répéter l'essai. Multiplier le résultat par 10.

Contrôle de qualité

Seriscann normal (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85).

Analyseurs automatiques

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

Bibliographie

Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., (1968) Clin. Chem., 14, 740 - 753.
Commission Enzymologie de la Société Française de Biologie Clinique. (1982) Ann. Biol. Clin., 40, 123 - 128.
Methods of Enzymatic Analysis. (1983) 3e édition, VIII, 118 - 126, édité par H.U. Bergmeyer Verlag Chemie.