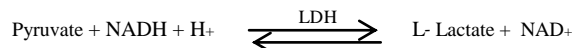


LDH (محلول پایدار)

لاکتات دهیدروژناز

اصول آزمایش:

روش بر اساس پیشنهاد کمیته آنزیم اسکاندیناوی (SCE) اصلاح شده است.



معرفها:

- معرف R1 : 80 ml

Tris buffer (PH 7.4)
Pyruvate

- معرف R2 : 20 ml

NADH

آماده سازی معرفها:

معرفها در روش دو معرفه (Reagent start) آماده مصرف میباشند ولی در روش تک معرفه (Sample start) محلول آماده بکار با اختلاط یک قسمت معرف R2 با چهار قسمت معرف R1 تهیه میگردد بطور مثال ۲ میلی لیتر معرف R2 با ۸ میلی لیتر معرف R1 مخلوط میگردد. از قرار دادن معرفها در برابر نور ممانعت گردد. معرفها در دمای ۲-۸°C تا انقضاء تاریخ مصرف پایدار میباشند. محلول آماده بکار تا ۳ هفته در دمای ۲-۸°C و ۳ روز در دمای ۱۵-۲۵°C پایدار خواهد ماند. از قرار دادن محلول آماده بکار در برابر نور ممانعت گردد.

شرایط تهیه و نگهداری نمونه:

از سرم یا پلاسما هیپارینه یا EDTA دار میتوان استفاده نمود. از استفاده از نمونه های همولیز اجتناب گردد. فعالیت آنزیم در سرم در مدت ۳ روز در دمای ۲-۸°C تا ۸٪ و در دمای ۱۵-۲۵°C تا ۲٪ کاهش می یابد.

روش انجام آزمایش:

طول موج : Hg 365 nm, 340 nm or Hg 334 nm
دما : ۲۵ °C , ۳۰°C or ۳۷ °C

اندازه گیری : در مقابل هوا (کاهش جذب نوری)

الف) روش تک معرفه (sample start): معرف و کووت را تا دمای مورد نظر گرم کنید . دما در حین آزمایش باید در محدوده (± 0.5 °C) حفظ شود.

دما	۲۵°C, ۳۰°C	۳۷°C
نمونه	20 µl	10 µl
محلول آماده بکار	1000 µl	1000 µl

پس از اختلاط بمدت ۱ دقیقه در دمای مورد نظر آنکوبه نمائید سپس جذب نوری را در دقایق ۱ و ۲ قرائت کرده و میانگین آنها را محاسبه کنید.

ب) روش دو معرفه (reagent start): معرف و کووت را تا دمای مورد نظر گرم کنید . دما در حین آزمایش باید در محدوده (± 0.5 °C) حفظ شود.

دما	۲۵°C, ۳۰°C	۳۷°C
نمونه	20 µl	10 µl
معرف R1	1000 µl	1000 µl
معرف R2	250 µl	250 µl

پس از اختلاط بمدت ۱ تا ۵ دقیقه در دمای مورد نظر آنکوبه نمائید سپس جذب نوری را در دقایق ۱ و ۲ قرائت کرده و میانگین آنها را محاسبه کنید.

محاسبه:

متوسط افزایش جذب در دقیقه $\Delta A / \text{min}$ را محاسبه و در فاکتور مربوطه ضرب نمایید.

دما	Sample start		Reagent start	
	۲۵°C, ۳۰°C	۳۷°C	۲۵°C, ۳۰°C	۳۷°C
Hg 334 nm	8250	16345	10275	20390
340 nm	8095	16030	10080	20000
Hg 365 nm	15000	29705	18675	37060

$$1 \mu\text{Kat/L} = 60 \text{ U/L}$$

فاکتور تبدیل نتیجه از روش SCE به روش IFCC:

$$\text{U/L (LDH SCE)} \times 0.4796 = \text{U/L (LDH IFCC)}$$

محدودیت آزمایش:

در صورتیکه کاهش جذب نوری در دقیقه بالاتر از ۰.۰۷۰ در طول موج ۳۶۵ نانومتر و یا بالاتر از ۰.۱۵۰ در طول موج ۳۳۴/۳۴۰ نانومتر شود ۰.۱ ml از نمونه را با ۰.۹ ml از سرم فیزیولوژی (۰.۹٪) مخلوط نموده آزمایش را تکرار و نتیجه را در ده ضرب کنید.

دقت (در ۳۷ درجه سانتیگراد):

Intra - assay precision

N = 40	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV (%)
Sample 1	306	7.34	2.4
Sample 2	597	4.97	0.83
Sample 3	299	6.05	2.02

Inter - assay precision

N = 40	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV (%)
Sample 1	310	6.13	1.98
Sample 2	603.5	8.41	1.39
Sample 3	312	4.74	1.52

مقایسه روش ها:

در مقایسه انجام شده کیت شرکت کیمیاپژوهان با یکی از متداول ترین کیت های فاسفر بر روی ۴۰ نمونه بیمار، نتیجه زیر بدست آمد:

$$Y = 1.013X + 1.1595$$

$$R^2 = 0.996$$

حدود طبیعی:

دما	۲۵°C	۳۰°C	۳۷°C	IFCC
Adult (U/L)	120-240	160-320	225-450	
Men (U/L)				<243
Women (U/L)				<244
Children (U/L)	Up to 500			
Up to 12 months				

کنترل کیفی:

توصیه میگردد از سرم کنترل های Control serum P و Control serum N و Multicalibrator XL شرکت کیمیاپژوهان استفاده گردد.

اتوماسیون:

پارامتر دستگاههای مختلف در شرکت موجود میباشد.

توجه:

- معرف ها حاوی سدیم آزاید میباشد بنابراین از تماس آن با پوست و چشم یا دهان خودداری گردد.

Reference:

- Z.Klin.chem.biochem.,8,658 (1970)10,182 (1972)

- Schumann,G.et al ., clin chem. Lab.Med 40,643-648 (2002)