

LACTATE DEHYDROGENASE

لاکتات دهیدروژناز

(Lactate Dehydrogenase)

DGKC

(Cat No.: BP-301122)

دو معرف

شرایط نگهداری و پایداری معرف‌ها

معرف‌ها در دمای °C ۸-۲ تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی ویال‌ها پایدار است، مشروط بر اینکه درب ویال‌ها بسته و آلوده نگردند. از یخ زدن معرف‌ها و نیز قرار دادن آنها در مقابل نور مستقیم خورشید خودداری شود. در صورت باز بودن درب ویال‌ها از مصرف آن بپرهیزید.

هشدارهای توصیه‌ای

قبل از شروع به کار از دستکش استفاده نمایید و اصول ایمنی کار در آزمایشگاه رعایت شود. از بلعیدن و تماس مستقیم معرف با دهان و دست و چشم‌ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.

آماده سازی معرف و مواد و لوازم مورد نیاز

معرف‌ها آماده مصرف می‌باشند.

سرم فیزیولوژی (محلول سدیم کلرید ۹ گرم در لیتر)

تجهیزات معمول آزمایشگاه تشخیص پزشکی

نکات ضروری

چنانچه مقدار اندازه گیری شده بیشتر از ماکزیمم حد خوانش کیت باشد می‌بایست نمونه را به نسبت ۱:۱۰ با سرم فیزیولوژی رقیق نموده، آزمایش را تکرار و نتیجه را در عدد ۱۱ ضرب نمایید. جهت انجام این آزمایش از پپیت‌های شیشه‌ای تمیز و سرسمپلر نو استفاده شود. وجود کدورت یا اجزاء خارجی در این معرف باعث افزایش جذب نوری بلانک در طول موج معین می‌گردد که از علائم تخریب معرف می‌باشد. می‌توان حجم نمونه و معرف را به تناسب تغییر داد تا با هر نوع فتومتر و آنالایزر قابل خوانش باشد.

عوامل مداخله گر

تری گلیسرید	۳۰۰ میلی گرم در دسی لیتر
بیلی روبین	۴۰ میلی گرم در دسی لیتر
اسیدآسکوربیک	۳۰ میلی گرم در دسی لیتر
هموگلوبین	در تمامی مقادیر

نمونه مورد آزمایش

جهت انجام آزمایش از سرم و پلاسمای هپارینه و یا EDTA دار می‌توان استفاده نمود.

معرف تشخیصی برای تعیین کمی لاکتات دهیدروژناز در سرم و

پلازما به روش فتومتریک

ترکیبات معرف

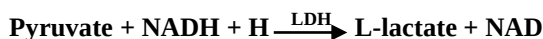
Components		Concentration
R1	Imidazole	0.65 mmol/L
	Pyruvate	0.6 mmol/L
R2	NADH	0.18 mmol/L

مقدمه

آنزیم لاکتات دهیدروژناز یا LDH در غلظت بالا در بافت قلب، کلیه، کبد، ریه، سیستم عصبی و عضلات وجود دارد و بطور کلی در سیتوپلاسم بافت‌ها وجود دارد. افزایش LDH می‌تواند در ارتباط با بسیاری از بیماری‌ها مانند حمله و آسیب‌های قلبی، آسیب‌های کلیوی، آسیب ریوی و سیستم عصبی، هپاتیت، کم خونی، سرطان‌ها و آسیب ماهیچه‌ها باشد. این آنزیم حداقل دارای ۵ ایزوآنزیم است که در بافت‌های مختلف و خون حضور دارند.

روش اندازه گیری

لاکتات دهیدروژناز تبدیل پیرووات به لاکتات را کاتالیز می‌کند و در جریان آن NADH به NAD⁺ اکسیده می‌شود. در روش DGKC با اندازه‌گیری میزان جذب نوری در زمان‌های مختلف، سرعت کاهش کوفاکتور NADH که متناسب با فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز می‌باشد تعیین می‌شود.



LACTATE DEHYDROGENASE

<436	U/L	کودک دختر ۱۳ تا ۱۷ ساله
<683	U/L	کودک پسر ۱۳ تا ۱۷ ساله
<480	U/L	بزرگسالان کمتر از ۶۵ سال
<530	U/L	بزرگسالان بیشتر از ۶۵ سال

کنترل کیفیت

جهت کنترل کیفی می توان از سرم کنترل ها و کالیبراتورهای معتبر استفاده نمود.

خصوصیات علمی کیت

1600	U/L	ماکزیم حد سنجش
15	U/L	حساسیت
		دقت

Within-Run (n=20)			
	Mean (mg/dl)	S.D (mg/dl)	CV%
Sample1	330	4.01	1.22
Sample2	717	4.23	0.59

Between-Run (n=20)			
	Mean (mg/dl)	S.D (mg/dl)	CV%
Sample 1	330	6.78	2.07
Sample 2	717	12.13	1.67

مقایسه روش ها

در مقایسه انجام شده به منظور بررسی کیت لاکتات دهیدروژناز دیپاک (Y) با یکی از متداول ترین کیت های موجود در بازار ایران (X) بر روی ۳۰ نمونه بیمار نتایج زیر به دست آمد:

$$y = 1.077x - 12.304$$

$$r = 0.997$$

References

1. Kaplan A. Pesce A. Lactate dehydrogenase. Clin Chem The CV Mosby Co. St Louis, Toronto. Princeton. 1984
2. Part 3: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase. Clin Chem Lab Med. 2002;
3. N.W. TIETZ. Clinical Guide to Laboratory Test. 2006;68-71.
4. Thomas L editor. Clinical laboratory diagnostics: use and assessment of clinical laboratory results.;1998.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. AACC Press; 2000.
6. SRM: Standard Reference material



پایداری لاکتات دهیدروژناز در نمونه (سرم یا پلاسما)

دمای ۱۵-۲۵ °C	کاهش فعالیت به میزان >۲٪ بعد از ۳ روز
دمای ۲-۸ °C	کاهش فعالیت به میزان >۸٪ بعد از ۳ روز
دمای ۲۰- °C	به مدت ۶ ماه

روش اندازه گیری بصورت دستی

دما	۲۵ یا ۳۷ درجه سانتی گراد
طول موج	۳۴۰ نانومتر
قطر کوط	۱ سانتی متر
خوانش	مقابل بلانک معرف روی صفر تنظیم شود

	Sample	Calibrator	Blank
Reagent 1	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Calibrator	-	15 µl	-
Sample	15 µl	-	-

پس از مخلوط نمودن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه شود و سپس معرف دوم اضافه شود.

	Sample	Calibrator	Blank
Reagent 2	250 µl	250 µl	250 µl

پس از مخلوط نمودن به مدت ۱ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه نموده و جذب نوری استاندارد و نمونه ها را در برابر بلانک اندازه گیری نمایید. بلافاصله کرنومتر را آغاز و دقیقاً بعد از ۲،۱ و ۳ دقیقه اختلاف جذب نوری را از دقیقه قبل تعیین نمایید. (ΔA/min)

محاسبه و ضریب تبدیل واحد

$$LDH (U/L) = \frac{\text{Sample}}{\text{Calibrator}} \times \text{Cal. Conc.}$$

$$LDH (U/L) = A/min \times 10080 (340 \text{ nm})$$

دامنه مرجع

<1103	U/L	نوزاد نارس
<1327	U/L	نوزاد ۱ روزه
<1732	U/L	نوزاد ۲ تا ۵ روزه
<975	U/L	نوزاد ۶ روزه تا ۶ ماهه
<1100	U/L	نوزاد ۷ تا ۱۲ ماهه
<850	U/L	نوزاد ۱ تا ۳ ساله
<615	U/L	کودک ۴ تا ۶ ساله
<580	U/L	کودک دختر ۷ تا ۱۲ ساله
<746	U/L	کودک پسر ۷ تا ۱۲ ساله