LDH Quantitative Assay Kit

Model: UV Kinetic Method(DGKC) - 50 ml - Ref:1116

دی آزما طب
DIAZMA
Diagnostic Solutions

کیت تشخیص کمی لاکتات دهیدروژناز دی‌آزما طب

محتویات کیت: **Reagent 1 (1x 40 ml)**

Reagent 2 (1 x 10 ml)

کاربرد: تعیین کمی LDH در سرم و پلاسما حاوی EDTA یا هپارین در آزمایشگاه‌های بالینی

مقدمه: لاکتات دهیدروژناز آنزیمی داخل سلولی از گروه اکسیدوردوکتازها می باشد که تقریبا در تمام سلول های بدن به خصوص در قلب، کبد، گلبول های قرمز، کلیه، عضلات اسکلتی و ریه ها یافت می شود. به هنگام آسیب دیدن بافت‌ها، این آنزیم درون خون آزاد شده و سطح آن در پلاسما افزایش می یابد.

این ویژگی لاکتات دهیدروژناز، آن را به یک شاخص مهم برای شناسایی صدمات و بیماریهای شایع در بدن تبدیل می‌کند. از جمله، ۴۸-۲۴ ساعت بعد از حمله قلبی، سطح LDH سرم افزایش یافته و طی ۳-۲ روز به بالاترین سطح خود می رسد. آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) دارای پنج ایزوآنزیم مختلف بوده و عمل آن تسریع واکنش های تبدیل لاکتات و پیروات است.

اساس آزمایش: **UV Kinetic Method(DGKC)**

براساس این روش مقدار مصرف NADH و تبدیل آن به NAD^+ متناسب با فعالیت آنزیم LDH می‌باشد.

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + H^+ \xleftrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactate} + NAD^+$$

اجزا و غلظت معرف‌ها:

Reagent		concentration
Reagent 1:		
Buffer	PH 7.5	50 mmol/L
Pyruvate		1 mmol/l
Reagent 2:		
Buffer	PH 9.0	30 mmol/L
NADH		0.4 mmol/L

پایداری و نگهداری محصول:

* در دمای ۸-۲ °C تا تاریخ انقضا درج‌شده بر روی محصول قابل‌استفاده می‌باشد.
* یخزدگی، قرار گرفتن در معرض نور، گرمای نامتعارف و آلودگی، باعث ناپایداری محتویات کیت می‌گردند.

مواد و تجهیزات موردنیاز برای انجام آزمایش:

- کالیبراتور و کنترل
- سرم فیزیولوژی
- دستگاه اتوآنالایزر یا فوتومتر

شرایط آزمایش:

- طول‌موج مناسب: ۳۴۰ نانومتر
- دمای مناسب: ۳۷ °C

شرایط و پایداری نمونه:

- نمونه مناسب، سرم یا پلاسمای حاوی EDTA یا هپارین می‌باشد.
- نمونه را از تابش نور و اشعه ماوراء بنفش دور نگهدارید و در کمترین زمان آنالیز گردد.
- همولیز و لیپمیک بودن نمونه باعث ایجاد خطا در نتایج می گردد.
- آنزیم به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق و ۷ روز در یخچال پایدار است اما بهتر است سرم در روز نمونه گیری موردآزمایش قرار گیرد.
- به علت ناپایدار بودن برخی از ایزوآنزیم های LDH نسبت به سرما، از قرار دادن سرم در فریزر خودداری کنید.
- از آلوده شدن نمونه ها جلوگیری شود.

نحوه آماده‌سازی ریجنت‌ها:

** ریجنت‌ها به‌صورت آماده قابل‌استفاده هستند.

احتیاط و نکات ایمنی:

- از بلعیدن و تماس مستقیم با پوست خودداری گردد.
- در صورت تماس با چشم با آب فراوان شسته شود.
- این کیت صرفاً برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی‌شده است.
- در مورد چگونگی دور ریختن مواد طبق قوانین تدوین‌شده در آزمایشگاه عمل شود.

روش انجام آزمایش:

۱) دستگاه فوتومتر را روشن نموده و طول‌موج مناسب را انتخاب کنید.

۲) درون کووت های مجزا 1000 µl ریجنت شماره ۱ را با 10 µl از نمونه، کالیبراتور و کنترل مخلوط نموده سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C نگه داری و سپس معرف شماره ۲ را به میزان 250 µl اضافه نمایید.

۳) دستگاه فوتومتر را توسط معرف بلانک صفر نمایید.

۴) پس از ۱ دقیقه، جذب نوری را قرائت کنید. بلافاصله کرنومتر را راه‌اندازی نمایید. در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ دقیقه بعد نیز جذب نوری را ثبت کرده و اختلاف جذب نوری بین قرائت‌ها را محاسبه نمایید.

تهران، شهرک صنعتی صفادشت، خیابان ششم غربی، مجتمع صنعتی خشایار
شماره تماس: ۰۲۱۶۵۷۴۳۱۲۲
وب‌سایت: diazmateb.ir
شماره تماس دفتر مرکزی: ۰۲۱۶۶۵۶۶۰۹۳

LDH Quantitative Assay Kit

Model: UV Kinetic Method(DGKC) - 50 ml - Ref:1116

دی آزما طب
DIAZMA
Diagnostic Solutions

۵) پس از اندازه گیری جذب نوری نمونه ها و استاندارد برای محاسبه از فرمول زیر استفاده کنید.

محاسبات:

مقدار اختلافات جذب نوری پس از دقایق ۱، ۲ و ۳ را با هم جمع نموده و بر عدد ۳ تقسیم کرده و میانگین بدست آمده را در فاکتور ۲۰۰۰۰ ضرب نمایید.

توجه: این فاکتورها بر اساس فوتومتر استاندارد بوده و فاکتورهای فوق در فوتومترها و اتوآنالیزرهای مختلف متفاوت می‌باشد.

دامنه مرجع:

بزرگسالان کمتر از 480 U/L

مقادیر نرمال LDH ممکن است از آزمایشگاهی به آزمایشگاه دیگر متفاوت باشد لذا هر آزمایشگاه باید محدوده مرجع را برای بیماران خود تهیه کند.

نتایج عملکردی و کارایی کیت:

خطی بودن: با این روش مقدار LDH تا 1600 U/L خطی اندازه‌گیری می‌شود. نمونه‌های با غلظت بالاتر را به نسبت **۱** واحد نمونه با **۴** واحد سرم فیزیولوژی رقیق نموده و جواب‌ها را در عدد **۵** ضرب نمایید.

حساسیت: حداقل مقدار قابل‌اندازه‌گیری 10 U/L می‌باشد.

دقت: تکرارپذیری با استفاده از نمونه‌های انسانی تعیین و نتایج زیر به دست آمد:

LDH mean (U/L)	Within-run CV(%)	Between-run CV(%)
338	1.0	0.8
841	0.5	0.47
	n^1 =20 replicate	n^1 =4 runs

مقایسه روش‌ها:

در مقایسه انجام‌شده جهت ارزیابی کیت های LDH شرکت دی‌آزما طب (Y) با یکی از متداول‌ترین کیت‌های LDH با متد یکسان (X) بر روی ۴۴ نمونه بیمار نتیجه زیر به دست آمد:

$Y=1.0001X - 0.0545, \quad r^2=0.9998$

عوامل مداخله‌گر

- **تری گلیسرید:** عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 2000 mg/dL
- **بیلی‌روبین:** عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 40 mg/dL
- **اسیدآسکوربیک:** عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 30 mg/dL

***توجه : لطفاً از به کار بردن نمونه های همولیز جدا خودداری نمایید.**

استفاده در دستگاه اتوآنالایزر: این کیت برای استفاده با طیف وسیعی از دستگاه‌های سنجش بیوشیمی مناسب می‌باشد.

نکات:

۱) معرف بلانک همان ترکیب 1000 µl ریجنت و 10 µl سرم فیزیولوژی یا آب مقطر است. در روش دستی می‌توان فوتومتر را با هوا روی صفر تنظیم کرد.

۲) اعدادی که به‌عنوان دامنه مرجع ارائه گردیده فقط به‌عنوان یک راهنما مورداستفاده قرار می‌گیرد. نتایج به‌دست‌آمده توسط هر آزمایشگاه ممکن است برای هر اقلیم و منطقه و در شرایط خاص قابل‌تغییر باشد.

۳) جهت کالیبراسیون و کنترل کیفی، توصیه می‌شود از کالیبراتور و سرم کنترل‌های شرکت دی‌آزما طب استفاده شود. همچنین امکان استفاده از کالیبراتور و سرم کنترل‌های سازگار با روش کیت از منابع معتبر موجود در کشور نیز وجود دارد.

۴) حجم معرف‌ها و نمونه را می‌توان به‌تناسب تغییر داد تا با هر نوع دستگاه سنجش بیوشیمی قابل خوانش باشد.

مراجع:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics.
2. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Edition W.B Saunders, 1987.
3. Laker, M. F., Clinical biochemistry.1996
4. CLSI/NCCLS Evaluation Protocol, EP5-A, 1999

نشانه‌ها:

شرایط نگهداری ۸-۲ درجه‌سلسیوس		هشدار	
شماره‌ساخت	LOT	تاریخ‌انقضاء	
دستورالعمل‌استفاده		تاریخ‌تولید	
تولیدکننده		قابل مصرف در آزمایشگاه	IVD
شماره‌کاتالوگ	REF		

تهران، شهرک صنعتی صفادشت، خیابان ششم غربی، مجتمع صنعتی خشایار

شماره تماس: ۰۲۱۶۵۷۴۳۱۲۲

وب‌سایت: diazmateb.ir

شماره تماس دفتر مرکزی: ۰۲۱۶۶۵۶۶۰۹۳