



LDH

(Enzymatic method DGKC)

REF LH250

تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R1 و R2
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترل‌های های نرمال و پاتوزن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر/اتوانالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

روش انجام آزمایش

پارامترهای دستگاهی

طول موج	340(330-360)nm
دما	37°C
طول مسیر عبور نور	1 cm
نحوه خوانش	Kinetic

نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
1000µL	1000µL	1000µL	۱(R1)
-	-	35µL	آب مقطر
35µL	-	-	نمونه
-	35µL	-	استاندارد

مقادیر بالا مخلوط شده و 3 دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود. سپس R2 اضافه شود.

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
250µL	250µL	250µL	۲(R2)

مقادیر بالا مخلوط شده و ۲ دقیقه در دمای 37°C انکوبه شده، سپس جذب نمونه (AS) نسبت به آب مقطر به فاصله ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه اندازه گیری شود.

تمامی پارامترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی های هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.

محاسبات

$$LDH (U/l) = \frac{\Delta A/min \text{ Sample}}{\Delta A/min \text{ calibrator}} * \text{Con. Of calibrator}$$

$$\text{Activity}(U/l) = \Delta A/min * 5828$$

مقادیر مرجع

Adults(U/l)	125-220(U/l)
-------------	--------------

-میزان LDH در کودکان(تا ۱۲ سال) ۱۰-۱۵ درصد بیشتر از بزرگسالان است.

هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی لاکتات دهیدروژناز موجود در سرم و پلاسما به روش آنزیمی (DGKC) استفاده می شود.

اهمیت بالینی

اندازه گیری LDH به منظور تشخیص بیماری های کبدی مانند هپاتیت ویروسی حاد، سیروز، سرطان متاستاتیک، بیماری های قلبی مانند انفارکتوس میوکارد و تومورهای ریه یا کلیه انجام می شود.

اساس اندازه گیری

لاکتات دهیدروژناز (LDH) به عنوان کاتالیزور بین پیروویک اسید و NADH عمل می کند. در حضور LDH و پیروویک اسید به NAD+ اکسید شده و میزان آن اندازه گیری می شود.

معرف ها

R1	Good buffer EDTA Pyruvate	100 mmol/l 10 mmol/l 4 mmol/l
R2	Good Buffer NADH	100 mmol/l 2 mmol/l

*معرف ها مایع و آماده مصرف می باشند.

پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای 2-8 °C نگهداری شود.
- از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.
- از فریز کردن معرف ها خودداری شود.

نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- معرف ها حاوی سدیم آزید هستند. از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و عشاء مخاطی پرهیز کنید. در صورت تماس با پوست حتما با مقدار زیاد آب شسته شود. از پیپت کردن محلول با دهان خودداری شود.
- موارد ای-جنی کار با این معرف ها در اسناد ای-جنی کیت ها (MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.

جمع آوری و آماده سازی نمونه

- نمونه سرم، پلاسما (lithium heparin)
- دما: ۸-۲۰ درجه سانتیگراد 4 روز
- دما: ۲۰- درجه ۴ هفته



LDH

(Enzymatic method DGKC)

REF

LH250

۵- بررسی تداخلات احتمالی

آنالیت های زیر درمقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی دهند.

Bilirubin	≤ 25mg/dl
Ascorbic Acid	≤ 20mg/dl
Triglycerides	≤ 800mg/dl

کنترل کیفیت

هر بار که کیت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.

منابع

1. Young D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, DC 5th ed. 2000
2. Henry, R.J. Clinical Chemistry: Principles and Techniques, Harper & Row. N.Y.
3. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
3. Friedrich Lottspeich, Joachim Engels, Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology, Wiley-VCH 2018

-هرآزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج LDH باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

پارامترهای کارایی کیت

۱- دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

50-800(U/L)

در نمونه های با غلظت بالاتر، نمونه با محلول 0.9 % NaCl با نسبت ۱:۱۰ رقیق شود.

۲- حساسیت (Sensitivity)

حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 50 U/l

۳- دقت (Precision)

-اینترآسی -تکرارپذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Intra-Assay Precision (within-run) n=20			
CV%	SD	میانگین (U/l)	نمونه
0.76	2.35	308.40	Level 1
1.04	5.45	522.20	Level 2

-اینترآسی -دقت

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Inter-Assay Precision (between-run) n=20/day			
CV%	SD	میانگین (U/l)	نمونه
0.52	1.59	308.13	Level 1
1.30	6.77	521.22	Level 2

۴- صحت (مقایسه روش ها)

مقایسه ای بین کیت شرکت بهان با یکی از کیت های معتبر بازار بر روی ۶۰ نمونه نتایج زیر بدست آمد.

ضریب همبستگی (R): 0.98

$$y = 0.986x - 0.1724$$