

Προβλεπόμενη χρήση

Για τον *in vitro* ποσοτικό κινητικό προσδιορισμό της δραστηριότητας της γαλακτικής αφυδρογονάσης σε ορό με τη χρήση των αναλυτών Yumizen C230 και Yumizen C240.

Rx Only.

Κλινική σηματικότητα

Τα αυξημένα επίπεδα της LD έχουν συσχετιστεί με έμφραγμα του μυοκαρδίου. Τα επίπεδά της κορυφώνονται περίπου 48 ημέρες μετά την εκδήλωση του άλγους και παραμένουν υψηλά για περίπου δέκα ημέρες. Ο βαθμός αύξησης είναι χρήσιμος για την αξιολόγηση της έκτασης της ζημιάς και για την ανάπτυξη μιας πρόγνωσης. Αύξηση τιμών της LD παρατηρούνται επίσης σε ηπατική νόσο, σε κακοήθη αναιμία, σε ορισμένες περιπτώσεις νεφρικής νόσου και σε ορισμένες περιπτώσεις μυοσκελετικού τραύματος.¹

Ιστορικό μεθόδου

Οι Wroblewski και Ladue² δημοσίευσαν την πρώτη UV κινητική μέθοδο για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της LDH σε ορό, το 1955. Η μέθοδος τους βασίστηκε στην κλασική δοκιμασία προσδιορισμού Kubowitz και Ott³ (1943) στην οποία χρησιμοποιείται η αντίδραση μετατροπής του πυροσταφυλικού σε γαλακτικό οξύ. Το 1956, οι Wacker κ.α.⁴ περιέγραψαν μια διαδικασία που βασίζονταν σε μια αντίδραση μετατροπής του γαλακτικού σε πυροσταφυλικό οξύ. Η αντίδραση μετατροπής γαλακτικού σε πυροσταφυλικό οξύ εξελίχθηκε στην προτιμώμενη αντίδραση⁶, παρόλο που ήταν η πιο αργή από τις δύο, λόγω μεγαλύτερου γραμμικού εύρους⁶ και απουσίας απαίτησης προεπιώσεως⁷. Η παρούσα μέθοδος ακολουθεί την ευθεία αντίδραση και έχει βελτιστοποιηθεί για μεγαλύτερη ευαισθησία και γραμμικότητα, όπως αναφέρεται από τους Gay et al.⁸

Αρχή

LD

L-Γαλακτικό οξύ + NAD⁺ -----> Πυροσταφυλικό οξύ + NADH + H⁺

Η γαλακτική αφυδρογονάση καταλύει την οξείδωση του γαλακτικού οξέος σε πυροσταφυλικό οξύ με ταυτόχρονη αναγωγή του NAD σε NADH. Ο ρυθμός αναγωγής του NAD μπορεί να μετρηθεί ως αύξηση στην απορρόφηση στα 340nm. Αυτός ο ρυθμός είναι ευθέως ανάλογος της δραστηριότητας της LD στον ορό.

Σύσταση αντιδραστηρίου

Μετά τον συνδυασμό των αντιδραστηρίων R1 και R2 το αντιδραστήριο περιέχει: NAD 5,8 mM, L-Γαλακτικό οξύ 55 mM, ρυθμιστικό διάλυμα pH 8,95. Μη αντιδρώντες σταθεροποιητές και αζίδιο του νατρίου (0,1%) ως συντηρητικό.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Τα αντιδραστήρια παρέχονται ως έτοιμα προς χρήση υγρά.

Αποθήκευση και σταθερότητα αντιδραστηρίου

Τα αντιδραστήρια παραμένουν σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται, εφόσον φυλάσσονται σύμφωνα με τις οδηγίες. Προστασία από το φως. Αποφεύγετε τη μικροβιακή μόλυνση.

Προφυλάξεις

- Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Τα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου (0,1%) ως συντηρητικό. Απαγορεύεται η κατάποση. Αποφεύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τον μολύβδο και τον χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας εκρηκτικά αζίδια μετάλλου. Κατά την απόρριψη του αντιδραστηρίου, ξεπλύνετε με μεγάλες ποσότητες νερού.
- Ο χειρισμός των δειγμάτων και των μαρτύρων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές λαμβάνοντας τις κατάλληλες προφυλάξεις, όπως περιγράφεται στο CDC/NIH Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2nd ed., 1988, HHS Publication No. (CDC) 88-8395.

Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

- Συνιστάται η χρήση μη αιμολυμένου ορού. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν μεγάλες συγκεντρώσεις LD.⁵
- Ο ορός πρέπει να αφαιρεθεί αμέσως από τον θρόμβο.
- Τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε δοκιμασία προσδιορισμού αμέσως μετά τη συλλογή. Έχει αναφερθεί ότι η LD σε ορό παραμένει σταθερή για τρεις ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου.⁹
- Μην καταψύχετε και μην εκθέτετε τον ορό σε υψηλές θερμοκρασίες (37°C), καθώς ενδέχεται να προκληθεί απενεργοποίηση των θερμοανθεκτικών ισοενζύμων της LD.¹⁰
- Η συλλογή των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με το NCCLS M29-T2.¹¹ Καμία μέθοδος δεν μπορεί να διασφαλίσει πλήρως ότι τα δείγματα ανθρώπινου αίματος δεν αποτελούν μολυσματικό παράγοντα. Συνεπώς, όλα τα δείγματα πρέπει να θεωρούνται εν δυνάμει μολυσματικά.

Αλληλεπιδράσεις

- Ορισμένα φάρμακα και ουσίες επηρεάζουν τη δραστηριότητα της LD. Βλ. Young, et al.¹²
- Έχει καταδειχθεί ότι η χολερυθρίνη σε επίπεδα 20 mg/dL παρουσιάζει αμελητέα παρεμβολή (≤ 5%) σε αυτήν τη δοκιμασία προσδιορισμού.
- Έχει καταδειχθεί ότι η αιμόλυση προκαλεί σημαντική παρεμβολή στη δοκιμασία προσδιορισμού ακόμη και στα χαμηλά επίπεδα των 100 mg/dL.

Παρεχόμενα υλικά

Lactate Dehydrogenase Buffer (R1) Reagent

Lactate Dehydrogenase Co-Enzyme (R2) Reagent

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

- Αναλυτής Yumizen C230 / Yumizen C240
- Εγχειρίδιο λειτουργίας Yumizen C230 / Yumizen C240
- Pointe Chemistry Control, αριθμός καταλόγου C7592-100

Παράμετροι εξέτασης

Εξέταση:	LDH	Χημικό στοιχείο:	Γαλακτική αφυδρογονάση
Χημικός αρ.:	223	Πλήρης ονομασία:	LDH
Τύπος αντίδρασης:	Κινητική	Κατεύθυνση αντίδρασης:	Θετική
Πρωτ. κύμα:	340 nm	Δευτ. κύμα:	405 nm
Δεκαδικό:	0	Τύπος δείγματος:	Ορός
Χρόνος τυφλού:		Χρόνος αντίδρασης:	3 11
Μονάδα:	U/L	Χρόνος επίασης:	3

	Όγκος δείγματος	Αναρροφήθηκε	Αραιωτικό	Όγκος αντιδραστηρίου	Αραιωτικό
Πρότυπο,	11	uL	uL	180	uL
Μειωμένο,		uL	uL	45	uL
Αυξημένο,		uL	uL		

Εύρος γραμμικότητας (Πρότυπο), 0-1000	Όριο γραμμικότητας: 0.3
Εύρος γραμμικότητας (Μειωμένο):	Μείωση υποστρώματος: 25000
Εύρος γραμμικότητας (Αυξημένο):	Μικτή απορρόφηση τυφλού: - 40000 40000
Απορρόφηση τυφλού R1: - 40000 40000	Σταθερότητα επί του συστήματος: 30 Ημέρες
Απόκριση τυφλού - 40000 40000	Όριο συναγεμού αντιδραστηρίου: 5
Διπλές χημείες:	

Έλεγχος προζώνης:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Χρήση ποσοτικού αποτελέσματος:	
Εύρος:	Επισήμανση:

Μετατόπιση κλίσης:			
Κλίση	Μετατόπιση	Μονάδα	
1	0	U/L	

Προεργασία:	
Προεργασία όγκου δείγματος: uL	Προεργασία όγκου αντιδραστηρίου: uL

Εύρος αναφοράς:					
Τύπος δείγματος:	Φύλο:	Εύρος ηλικίας:	Εύρος αναφοράς:	Κρίσιμο εύρος:	Μονάδα:

Σετ αντιδραστηρίων Pointe Lactate Dehydrogenase

Παράμετροι ρύθμισης βαθμονόμησης

Χημ.: LDH	Βαθμονομητής	Συγκ.	Θέση	Αρ. παρτίδας
Ρύθμιση βαθμονόμησης	Νερό	0,0	W	
Μαθηματικό μοντέλο: Παράγοντας K				
Συντελεστής: 3907,000				
Επαναλήψεις: 2				
Αποδεκτά όρια				
Χρόνος βαθμ.: 24 ώρες				
Διαφ. κλίσης: SD:				
Ευαισθησία:				
Επαναληψιμότητα:	* Ορίζεται από τον χρήστη			
Συντ. προσδ.:				
Αυτόματη βαθμ.				
	<input type="checkbox"/> Χρόνος βαθμ.			

Περιορισμοί

- Ο αιμολυμένος ορός θα οδηγήσει σε ψευδώς αυξημένα επίπεδα LD ορού.
- Τα δείγματα που υπερβαίνουν το όριο γραμμικότητας (1000 U/L) πρέπει να αραιώνονται με ίσο όγκο φυσιολογικού ορού και να υποβάλλονται εκ νέου σε δοκιμασία προσδιορισμού. Πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα επί δύο για την αντιστάθμιση της αραιώσης.

Βαθμονόμηση

Η διαδικασία τυποποιείται μέσω της χιλιοστομοριακής απορροφητικότητας του NADH που ορίζεται ως 6,22 στα 340 nm υπό τις συνθήκες εξέτασης που περιγράφονται.

Ποιοτικός έλεγχος

Η εγκυρότητα της αντίδρασης πρέπει να παρακολουθείται μέσω της χρήσης δειγμάτων μάρτυρα με γνωστές φυσιολογικές και μη φυσιολογικές τιμές LD. Αυτοί οι μάρτυρες πρέπει να υποβάλλονται σε ανάλυση τουλάχιστον σε κάθε βάρδια στην οποία διενεργούνται δοκιμασίες προσδιορισμού LD. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει τη δική του συχνότητα προσδιορισμού με μάρτυρες. Πρέπει να καθιερωθούν απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου σε συμμόρφωση με τους τοπικούς, κρατικούς, ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης.

Υπολογισμός (Παράδειγμα)

Μία διεθνής μονάδα (U/L) ορίζεται ως η ποσότητα του ενζύμου που καταλύει τη μεταβολή ενός μικρομορίου (micromole) υποστρώματος ανά λεπτό.

$$IU/L = \frac{(A_2 - A_1) \times 1,050 \times 1000}{1 \times 6,22 \times 0,050 \text{ mL}} = (A_2 - A_1) \times 3376$$

Όπου:

- (A₂-A₁) = Μεταβολή στην απορρόφηση
- 1,050 = Συνολικός όγκος αντίδρασης σε mL
- 1000 = Μετατροπή U/mL σε U/L
- 1 = Διαδρομή φωτός σε cm
- 6,22 = Χιλιοστομοριακή απορροφητικότητα του NADH
- 0,050 = Όγκος δείγματος σε mL

Παράδειγμα: Εάν η αρχική μέτρηση (A₁) = 0,450
Εάν η τελική μέτρηση (A₂) = 0,480
(A₂-A₁) = 0,03
Τότε 0,03 x 3376 = 101 U/L

Σημείωση: Για μονάδες SI (nkat/L), πολλαπλασιάστε το αποτέλεσμα επί 16,76.

Αναμενόμενες τιμές⁵

Άντρας 50-166 U/L (30°C) 80-285 U/L (37°C)
Γυναίκα 60-132 U/L (30°C) 103-227 U/L (37°C)

Λόγω πληθώρας συνθηκών (διατροφικών γεωγραφικών, ηλικιακών, κ.λπ.) που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τα εύρη τιμών αναφοράς, συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει το δικό του εύρος τιμών αναφοράς.

Επίδοση

- Δοκιμασία προσδιορισμού: 0-1000 U/L. Τα δείγματα που υπερβαίνουν τα 1000 U/L πρέπει να αραιώνονται με ίσο όγκο φυσιολογικού ορού, να

υποβάλλονται εκ νέου σε δοκιμασία προσδιορισμού και τα αποτελέσματα να πολλαπλασιάζονται επί δύο.

- Συσχέτιση: Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε μεταξύ των αναλυτών της σειράς Yumizen 200 και παρόμοιου αναλυτή με τη χρήση αυτής της μεθόδου, προέκυψε συντελεστής συσχέτισης 0,999 με εξίσωση παλινδρόμησης $y=1,013x + 4,1$.
- Πιστότητα: Οι μελέτες ακριβείας εκτελέστηκαν βάσει μιας τροποποίησης των κατευθυντηρίων οδηγιών που περιέχονται στο έγγραφο EP5-T2 της NCCLS.¹²






Εντός της ανάλυσης			Ημερησίως		
Μέση τιμή	S.D.	C.V.%	Μέση τιμή	S.D.	C.V.%
131,6	4,4	3,4	114,4	2,3	2,0
331,5	6,4	1,9	331,3	7,0	2,1

- Ευαισθησία: Η ευαισθησία για το αντιδραστήριο Liquid LD διερευνήθηκε με μέτρηση της μεταβολής στην απορρόφηση στα 340 nm για ένα δείγμα απιονισμένου νερού και για δείγματα ορού με γνωστές δραστηριότητες LD. Πραγματοποιήθηκαν δέκα επαναλήψεις από κάθε δείγμα. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας κατέδειξαν ότι στον αναλυτή που χρησιμοποιήθηκε, το αντιδραστήριο Liquid LD παρουσίασε μικρή ή καθόλου απόκλιση του αντιδραστηρίου σε μηδενικό δείγμα. Υπό τις συνθήκες αντίδρασης που περιγράφηκαν, μεταβολή στην απορρόφηση της τάξης του 0,0001 ισοδυναμούσε σε δραστηριότητα LD 1 U/L περίπου.

Βιβλιογραφία

- Tietz, N.W., editor, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Ed., W.B. Saunders Co., 391 (1987).
- Wroblewski, F., LaDue, J.S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90:210 (1955).
- Kubowitz, F., Ott, P., Biochem. 314:94 (1943).
- Wacker, W.E.C., et al, N. Engl. J. Med. 255:449 (1956).
- Henry, R.J. et al, Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD) Harper & Row, pp. 819-831. (1974).
- Amador, E., et al, Clin. Chem. 9:391 (1963).
- Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289 (1977).
- Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B. Saunders Co., 657 (1976).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B. Saunders Co., 657, (1976).
- Kreutzer, H.H., et al, Clin. Chim. Acta 9:64 (1964).
- NCCLS Document M29-T2, 2nd Ed. (1991).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D (1975).
- NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Υπόμνημα συμβόλων

 Χρήση έως (EEEE-MM-HH)	LOT Παρτίδα και κωδικός παρτίδας
REF Αριθμός καταλόγου	 Κατασκευαστής
IVD <i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	 Όρια θερμοκρασίας
 Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης	Rx Only: Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
 Σήμανση CE	EC REP Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα

REF 12-L7572-100

Παρασκευάζεται από
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Παρασκευάζεται από την HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188



Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BE/ΓΙΟ
Τηλ.: (32)2.732.59.54 Φαξ: (32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Αντιδραστήρια πιστοποιημένα ως προς την απόδοση

Τα αντιδραστήρια της Pointe είναι πιστοποιημένα για παρασκευή σύμφωνα με καθορισμένες παραμέτρους. Οποιοδήποτε προϊόν αντιδραστηρίου της Pointe δεν πληροί τις προδιαγραφές έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης του θα αποκαθίσταται αμέσως χωρίς χρέωση.