

Προβλεπόμενη χρήση

Για τον *in vitro* ποσοτικό κινητικό προσδιορισμό της δραστηριότητας της γαλακτικής αφυδρογονάσης σε ορό με τη χρήση του αναλυτή Yumizen C560. **Rx Only**.

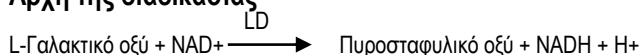
Κλινική σημαντικότητα

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 κακοήγη 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 μέθοδός 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 βασιζόταν σε μια αντίδραση μετατροπής του γαλακτικού σε πυροσταφυλικό οξύ. Η αντίδραση μετατροπής γαλακτικού σε πυροσταφυλικό οξύ εξελίχθηκε στην προτιμώμενη αντίδραση⁵, παρόλο που ήταν η πιο αργή από τις δύο, λόγω μεγαλύτερου γραμμικού εύρους⁶ και απουσίας απαίτησης προεπίσωσης⁷. Η παρούσα μέθοδος ακολουθεί την ευθεία αντίδραση και έχει βελτιστοποιηθεί για μεγαλύτερη ευαισθησία και γραμμικότητα, όπως αναφέρεται από τους Gay et al.⁸

Αρχή της διαδικασίας



Η γαλακτική αφυδρογονάση καταλύει την οξειδωση 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. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση. Οι μελέτες του κατασκευαστή έχουν δείξει ότι το αντιδραστήριο είναι σταθερό για 30 ημέρες αν τοποθετηθεί σε περιστρεφόμενο δίσκο αντιδραστηρίων υπό ψύξη (2-10°C). Ωστόσο, η σταθερότητα του αντιδραστηρίου ενδέχεται να διαφέρει ανάλογα με τις συνθήκες κάθε μεμονωμένου εργαστηρίου.

Προφυλάξεις και κίνδυνοι

1. Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
2. 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.
3. Τα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου (0,1%) ως συντηρητικό. Απαγορεύεται η κατάποση. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τον μόλυβδο και τον χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας εκρηκτικά αζίδια μετάλλου. Κατά την απόρριψη του αντιδραστηρίου, ξεπλύνετε με μεγάλες ποσότητες νερού.

Κίνδυνοι:

R1 και R2: Κατηγοριοποιήσεις κινδύνων: Δεν αποτελεί επικίνδυνη ουσία ή μείγμα.

Εικονόγραμμα: Δεν απαιτείται.

Προειδοποιητική λέξη: Δεν απαιτείται.

Δηλώσεις κινδύνου: Δεν αποτελεί επικίνδυνη ουσία ή μείγμα.

Δηλώσεις προφύλαξης: Δεν αποτελεί επικίνδυνη ουσία ή μείγμα.

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφάλειας για το συγκεκριμένο προϊόν (SDS-L7572) το οποίο μπορείτε να προμηθευτείτε καλώντας στο 1-734-487-8300.

Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

1. Συνιστάται η χρήση μη αιμολυμένου ορού. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν μεγάλες συγκεντρώσεις LD.⁵
2. Ο ορός πρέπει να αφαιρεθεί αμέσως από τον θρόμβο.
3. 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
4. Μην καταψύχετε και μην εκθέτετε τον ορό σε υψηλές θερμοκρασίες (37°C), καθώς ενδέχεται να προκληθεί απενεργοποίηση των θερμοανθεκτικών ισοενζύμων της LD.¹⁰
5. 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

1. Ορισμένα φάρμακα και ουσίες επηρεάζουν τη δραστηριότητα της LD. Βλ. Young, et al.¹²
2. Έχει καταδειχθεί ότι η χολερυθρίνη σε επίπεδα 20 mg/dL παρουσιάζει αμελητέα παρεμβολή (≤ 5%) σε αυτήν τη δοκιμασία προσδιορισμού.
3. 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

Σετ αντιδραστηρίων Pointe Lactate Dehydrogenase

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

1. Αναλυτής Yumizen C560
2. Εγχειρίδιο λειτουργίας Yumizen C560
3. Chemistry control, αριθμός καταλόγου C7592-100

Περιορισμοί

1. Ο αιμολυμένος ορός θα οδηγήσει σε ψευδώς αυξημένα επίπεδα LD ορού.
2. 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 χλιοστομοριακής 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.

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

1. Εύρος δοκιμασίας προσδιορισμού: 2-1000 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.
2. Συσχέτιση: Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε μεταξύ του αναλυτή Yumizen C560 και παρόμοιου αναλυτή με τη χρήση αυτής της μεθόδου, προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

Μέθοδος	LDH
N	80
Μέση τιμή LDH (U/L)	223,4
Εύρος τιμών (U/L)	88-866
Τυπική απόκλιση	153,8
Ανάλυση παλινδρόμησης	$y = 0,974x - 8,1$
Συντελεστής συσχέτισης	0,9995

3. Ακρίβεια: Οι μελέτες ακριβείας εκτελέστηκαν βάσει μιας τροποποίησης των κατευθυντηρίων οδηγιών που περιέχονται στο έγγραφο EP5-T2 της NCCLS.¹²

Δείγμα	Εντός της ημέρας			Ημερησίως		
	LOW	MID	HIGH	LOW	MID	HIGH
N	20	20	20	40	40	40
Μέση τιμή	111,1	349,1	628,3	123,6	381,4	696,5
Τυπική απόκλιση	1,4	2,8	3,4	1,6	5,2	9,6
Συντελεστής διακύμανσης (%)	1,3%	0,8%	0,5%	1,3%	1,4%	1,4%

4. Ευαισθησία: 2 SD Όριο ανίχνευσης (Διαστήματα εμπιστοσύνης 95%): 2 U/L

Βιβλιογραφία

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

ΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

Χημ.:	LDH	κατ.:	223	Τύπος δείγματος:	Ορός
Χημικό στοιχείο:	Γαλακτική αφυδρογονάση			Πλήρης ονομασία:	LDH
Τύπος αντίδρασης:	Κινητική			Κατεύθυνση αντίδρασης:	Θετική
Πρωτεύον κύμα:	340			Δευτερεύον κύμα:	412
Μονάδα:	U/L			Δεκαδικό	0
Χρόνος τυφλού:	0	0		Χρόνος αντίδρασης:	56
	Όγκος δείγματος	Αναρροφημένο	Αραιωτικό	Όγκος αντιδραστηρίου	71
Πρότυπο:	7,3 uL	-- uL	-- uL	R1:	120 uL -- uL
Μειωμένο:	-- uL	-- uL	-- uL	R2:	30 uL -- uL
Αυξημένο:	-- uL	-- uL	-- uL	R3:	-- uL -- uL
	<input type="checkbox"/> Τυφλό δείγματος	<input checked="" type="checkbox"/> Αυτόματη εκ νέου ανάλυση		R4:	-- uL -- uL
Ρύθμιση κλίσης/μετατόπισης					
Κλίση: 1		Μετατόπιση: 0			

Εύρος γραμμικότητας (Πρότυπο)	2	1000	Όριο γραμμικότητας:	0.3
Εύρος γραμμικότητας (Μειωμένο)	---	---	Μείωση υποστρώματος:	25000
Εύρος γραμμικότητας (Αυξημένο)	---	---	Μικτή απορρόφηση τυφλού:	
Απορρόφηση τυφλού R1:	---	---	Χρόνος αφαίρεσης πωμάτων	
Απόκριση τυφλού:	---	---	Όριο συναγεμμού αντιδραστηρίου:	
Διπλές χημείες:			<input type="checkbox"/> Γραμμική ενζυμική επέκταση	
<input type="checkbox"/> Έλεγχος προζώνης		<input type="checkbox"/> Έλεγχος ρυθμού	<input type="checkbox"/> Προσθήκη αντιγόνου	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

