

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania kinetycznego in vitro aktywności dehydrogenazy mleczanowej w surowicy przy użyciu analizatora Yumizen C560. **Rx Only.**

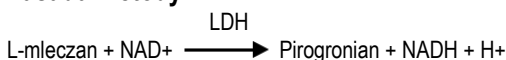
Znaczenie kliniczne

Podwyższone poziomy LDH są związane z zawałem mięśnia sercowego. Poziomy osiągają maksimum około 48 godzin po wystąpieniu bólu i utrzymują się przez około dziesięć dni. Stopień wznesienia ma znaczenie przy ocenie rozmiaru uszkodzeń i opracowywaniu prognozy. Podwyższony poziom LD obserwowane są również w chorobach wątroby, niedokrwistości złośliwej, w niektórych przypadkach chorób nerek oraz w niektórych przypadkach urazów mięśni szkieletowych.¹

Historia metody

Wróblewski i Ladue² opublikowali pierwszą kinetyczną metodę UV do oznaczania aktywności LDH w surowicy w 1955 roku. Ich metoda opierała się na klasycznym teście Kubowitzki i Ott³ (1943) wykorzystującym reakcję pirogronianu do mleczanu. W 1956 roku Wacker i wsp.⁴ opisali procedurę, która następowała po reakcji mleczanu w pirogronian. Reakcja mleczanu do pirogronianu stała się preferowaną reakcją⁵, chociaż wolniejszą z dwóch, ze względu na szerszy zakres liniowy⁶ i brak wymogu wstępnej inkubacji⁷. Niniejsza metoda podąża za reakcją do przodu i została zoptymalizowana pod kątem większej czułości i liniowości, jak opisali Gay i in.⁸

Zasada metody



Dehydrogenaza mleczanowa katalizuje utlenianie mleczanu do pirogronianu z jednoczesną redukcją NAD do NADH. Szybkość redukcji NAD można zmierzyć jako wzrost absorbancji przy 340 nm. Szybkość ta jest wprost proporcjonalna do aktywności LDH w surowicy.

Skład odczynnika

Po połączeniu R1 i R2 odczynnik zawiera: NAD 5,8 mM, L-mleczan 55 mM, Bufor pH 8,95. Niereaktywne stabilizatory i azydek sodu (0,1%) jako środek konserwujący.

Przygotowanie odczynnika

Odczynniki dostarczane są w postaci gotowych do użycia płynów.

Przechowywanie i stabilność odczynnika

Odczynniki są stabilne do podanego terminu ważności, jeśli są przechowywane zgodnie z zaleceniami. Chronić przed światłem. Unikać zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Badania producenta wykazały, że odczynnik jest stabilny przez 30 dni po umieszczeniu w schłodzonej karuzeli z odczynnikami (2-10°C), jednak stabilność odczynnika może się różnić w zależności od indywidualnych warunków laboratoryjnych..

Środki ostrożności i zagrożenia

1. Ten odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.
2. Ze wszystkimi próbkami i kontrolami należy obchodzić się zgodnie z dobrymi praktykami laboratoryjnymi, stosując odpowiednie środki ostrożności opisane w podręczniku CDC/NIH „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories”, wyd. 2, 1988, publikacja HHS nr (CDC) 88 -8395.
3. Odczynniki zawierają jako środek konserwujący azydek sodu (0,1%). Nie spożywać. Unikać kontaktu ze skórą i oczami. Azydek sodu może wchodzić w reakcje z ołowianymi i miedzianymi armaturami instalacyjnymi, powodując wybuchowe azydki metali. Podczas usuwania odczynnika splukać dużą ilością wody.

Zagrożenia:

R1 i R2: Klasyfikacja zagrożeń: Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

Piktogram: niewymagany.

Hasło ostrzegawcze: Nie wymagane.

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

Zwroty wskazujące środki ostrożności: Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

Zapoznaj się z kartą charakterystyki tego produktu (SDS-L7572) dostępną pod numerem telefonu 1-734-487-8300.

Pobieranie i przechowywanie próbek

1. Zalecana jest surowica niezhemolizowana. Krwinki czerwone zawierają duże stężenia LDH.⁵
2. Surowicę należy niezwłocznie usunąć ze skrzepu.
3. Próbkę należy zbadać wkrótce po pobraniu. LDH w surowicy jest stabilne przez dwa do trzech dni w temperaturze pokojowej.⁹
4. Nie zamrażać ani nie wystawiać surowicy na działanie wysokich temperatur (37°C), ponieważ może to spowodować inaktywację termolabilnych izoenzymów LDH.¹⁰
5. Pobieranie próbek powinno odbywać się zgodnie z NCCLS M29-T2.¹¹ Żadna metoda nie daje całkowitej pewności, że próbki krwi ludzkiej nie przeniosą zakażenia. Dlatego wszystkie próbki należy traktować jako potencjalnie zakaźne.

Interferencje

1. Niektóre leki i substancje wpływają na aktywność LDH. Patrz Young i wsp.¹²
2. Stwierdzono, że bilirubina do poziomu 20 mg/dl wykazuje znikomą interferencję (≤ 5%) w tym teście.
3. Wykazano, że hemoliza znacząco zakłóca test przy poziomach tak niskich jak 100 mg/dl.

Materiały wymagane

Lactate Dehydrogenase Buffer (R1) Reagent

Lactate Dehydrogenase Co-Enzyme (R2) Reagent

Pointe Lactate Dehydrogenase Reagent Set

Materiały wymagane, niedostarczane

1. Analizator Yumizen C560
2. Instrukcja obsługi do analizatora Yumizen C560
3. Chemistry control, numer katalogowy C7592-100

Ograniczenia

1. Zhemolizowana surowica spowoduje fałszywie podwyższone poziomy LDH w surowicy.
2. Próbkę przekraczającą granicę liniowości (1000 U/L) należy rozcieńczyć taką samą objętością soli fizjologicznej i ponownie oznaczyć. Pomnóż wyniki przez dwa, aby zrekompensować rozcieńczenie.

Kalibracja

Procedura jest standaryzowana za pomocą milimolarnej absorpcji NADH, przyjętej jako 6,22 przy 340 nm w opisanych warunkach testowych.

Kontrola jakości

Ważność reakcji należy monitorować za pomocą próbek kontrolnych o znanych prawidłowych i nieprawidłowych wartościach LD. Kontrole te należy przeprowadzać co najmniej na każdej zmianie roboczej, podczas której wykonywane są testy LD. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Kontrole jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji..

Wartości oczekiwane ⁵

Mężczyźni 50-166 U/L (30°C) 80-285 U/L (37°C)

Kobiety 60-132 U/L (30°C) 103-227 U/L (37°C)

Ze względu na szeroki zakres warunków (dieta, położenie geograficzne, wiek itp.), o których wiadomo, że wpływają na zakresy referencyjne, zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres referencyjny.

Charakterystyka

1. Zakres testu: 2-1000 j/l. Próbkę przekraczającą 1000 U/L należy rozcieńczyć taką samą objętością soli fizjologicznej, ponownie oznaczyć i pomnożyć wynik przez dwa.
2. Korelacja: przeprowadzono badanie Yumizen C560 i podobnego analizatora przy użyciu tej metody, w wyniku czego uzyskano następujące wyniki

Method	LDH
N	80
Mean LDH (U/L)	223.4
Range (U/L)	88-866
Standard Deviation	153.8
Regression Analysis	$y = 0.964x - 8.1$
Correlation Coefficient	0.9995

3. Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.¹²

Próbka	W ciągu dnia			Całkowita		
	NISKA	ŚREDNIA	WYSOKA	NISKA	ŚREDNIA	WYSOKA
N	20	20	20	40	40	40
Średnia	111.1	349.1	628.3	123.6	381.4	696.5
Odchylenie standardowe	1.4	2.8	3.4	1.6	5.2	9.6
Współczynnik wariancji (%)	1.3%	0.8%	0.5%	1.3%	1.4%	1.4%

4. Czulość: 2 SD Granica wykrywalności (95% Con Int):2 U/L

Piśmiennictwo

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. Exp. 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).

PARAMETRY CHEMICZNE

Chem:	LDH	Nr.:	223	Typ próbki:	Surowica	
Nazwa chem:	Dehydrogenaza mleczanowa	Wydruk:	TIBC	Kierunek reakcji:	Rosnąca	
Rodzaj reakcji:	Kinetyczna	II dł. fali:	412	Miejsca dziesiętne:	0	
I dł. fali:	340	Cykl pomiaru próbki:	56		71	
Jednostka:	U/L	Obj. próbki.	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika.	Rozcieńczalnik
Cykl pomiaru próby ślepej:	0 0	Podstawowa:	7.3 ul --- ul --- ul	R1:	120 ul --- ul	
		Zmniejszona:	--- ul --- ul --- ul	R2:	30 ul -- ul	
		Zwiększona:	--- ul --- ul --- ul	R3:	--- ul -- ul	
		<input type="checkbox"/> Próba ślepa	<input checked="" type="checkbox"/> Auto powt.	R4:	--- ul --- ul	

Regulacja przesunięcia/nachylenia

Nachylenie: 1	Przesunięcie: 0	Limit liniowości:	0.3
Zakres liniowości (podstawowy)	2 1000	Zużycie substratu:	25000
Zakres liniowości (Zwiększony)	___ ___	Mieszana	
Zakres liniowości (Zmniejszony)	___ ___	absorbancja próby	
Abs R1/próba ślepa:	___ ___	ślepej:	
Pusta odpowiedź:	___ ___	Czas	
Chemia bliźniacza:		odkorkowania:	
<input checked="" type="checkbox"/> Efekt Prozone	<input type="checkbox"/> Ocena wskaźnika	Limit alarmu	
		odczynnika:	
		<input checked="" type="checkbox"/> Rozszerzalność liniowa dla	
		enzymu	
		<input type="checkbox"/> Dodanie antygenu	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

