MEDICHEM MIDDLE EAST
Clinical Chemistry Reagents
Liquid Stable Reagents

الإجراء اليدوي

Cat. No. 17370
من أجل 50 تحليل

R1	1 x	40 ml
R2	1 x	10 ml

النازعة اللبنية LDH-P

طريقة حركية غير لونية.

كاشف سائل

مبدأ الاختبار:

تعتمد معايرة نازعة الهيدروجين اللبنية LDH على التفاعل الحركي التالي:

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH+H}^+ \xrightarrow{LDH} \text{L-Lactate} + \text{NAD}^+$$

خميرة Lactate dehydrogenase (LDH) كوسيط تحفز إرجاع الـ pyruvate إلى Lactate بشكل متزامن مع أكسدة NADH إلى NAD. و الذي يقاس عند طول موجة 340 نانومتر. معدل التناقص في الامتصاصية اللونية تتناسب مع فعالية النازعة اللبنية LDH في العينة.

تركيب الكاشف :

Reagent R1		
TRIS	80	mmol/L
pyruvate	1.9	mmol/L
Sodium chloride	20	mmol/L
non-reactive stabilizer.		
Reagent R2		
NADH	1.3	mmol/L
Preservative.		

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

كاشف R1: سائل.
كاشف R2: سائل.
كل الكواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المثبتة على اللصاقة عند التخزين في الدرجة 2– 8 مْ.

محلول العمل: (4 + 1)
نضيف 4 أحجام من كاشف R1 إلى حجم واحد من كاشف R2. نمزج بلطف. محلول العمل ثابت مدة 4 أسبوع في الدرجة 2- 8 مْ.

جمع العينة و حفظها:

1 - عينة غير منحلة من المصل أو بلازما هيبارين أو EDTA .
2 - يجب فصل المصل عن الخثرة بالسرعة الممكنة, خلايا الدم الحمراء تحوي تراكيز عالية من LDH .
3 - النازعة اللبنية LDH ثابتة في المصل لمدة:
7 أيام في الدرجة 2 – 8 مْ. و 2-3 أيام في الدرجة 20-25 مْ.
4 - لا تعرّض المصل إلى درجات حرارة أعلى من (37°C) في هذه الحالة يمكن أن يثبط عمل LDH isoenzymes.

المعايرة:

مصل معياري عام — MediCal U Cat .No 15011

ضبط الجودة:

مصل شاهد طبيعي — Meditrol N Cat .No 15171
مصل شاهد مرضي — Meditrol P Cat .No 15181

الإجراء:

طول الموجة (فوتومتر)	Hg 340nm (334, 365nm)
طول الموجة (سبكتروفوتومتر)	340nm
حجرة القياس	المسار الضوئي 1 cm
درجة الحرارة	37 °C
القياس	مقابل الماء المقطر أو الهواء
التفاعل	حركي - متناقص

التحليل:

أحضن محلول العمل في الدرجة 37 مْ قبل الاستعمال

العينة	20 µl
محلول العمل	1000 µl
امزج بشكل جيد و احضن مدة 30 ثانية في الدرجة 37 مْ. أقرأ التغير في الامتصاصية الضوئية كل دقيقة خلال 3 دقائق, احسب تغير الامتصاصية الوسطي (ΔA/min).	

الحساب:

لحساب فعالية النازعة اللبنية LDH :

فعالية النازعة اللبنية LDH-P (U/L) = ΔA/min X الفاكتور (F)

عامل المعايرة (F):

طول الموجة	334 nm	340 nm	365 nm
37°C	8252	8095	15000

ملاحظة: من المقترح لكل مخبر (بحسب كفاءة الجهاز المستخدم) أن يستخرج عامل المعايرة (F) خاص به باستخدام محلول معايرة حسب العلاقة التالية:

$$F = \frac{Conc_{calibrator}}{\Delta A/\min_{Calibrator}}$$

الخطية:

حتى: 1200 U/L
العينة ذات النتيجة أعلى من 1200 U/L يجب أن تمدد بمحلول كلور الصوديوم 0.9% (محلول فيزيولوجي) بنسبة (1+2) و بإعادة التحليل نضرب النتيجة بـ 3.

التداخلات:

1 - خلايا الدم الحمراء تحوي تراكيز عالية من LDH , الانحلال يتداخل مع الاختبار و بالتالي أعطاء نتائج مرتفعة خاطئة.
2 - انظر في كتاب Young *et. al.* من اجل جداول إضافية لتداخل المواد.

التحذيرات:

يحتوي الكاشف على أزيد الصوديوم كمادة حافظة. و من المحتمل أن يرتبط مع أملاح النحاس أو الرصاص ليشكل أزيدات المعادن المتفجرة, لذلك بعد طرح الكاشف المستخدم اغسل بكمية كبيرة من الماء لمنع ارتباط الأزيد.

المجال الطبيعي:

حديثي الولادة	1 يوم	<1327 U/L
	2 – 5 يوم	<1732 U/L
الرّضع	6 يوم – 6 شهر	<975 U/L
الأطفال	7 – 12 شهر	<1100 U/L
	1 – 3 سنة	<850 U/L
	4 – 6 سنة	<615 U/L
7 – 12 سنة	نساء	<580 U/L
	رجال	<764 U/L
13 – 17 سنة	نساء	<436 U/L
	رجال	<683 U/L
بالغون		<480 U/L

المراجع:

1. Clin. Chem. Clin. Biochem. 8, 658 (1970), 1, 1820 (1972).
2. Ann. Biol. Clin., 4o (1982), 123
3. Young, DS., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACC Press, Washington, D.C.
4. Working Group on Enzymes. Proposal of standard methods for the determination of enzyme catalytic concentrations in serum and plasma at 37° C. IV. Lactate dehydrogenase. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992; 30: 787-92.
5. Lorentz K, Klauke R, Schmidt E. Recommendation for the determination of the catalytic concentration of lactate dehydrogenase at 37 0C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993; 31: 897-9.
6. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. J Clin Chem Clin Biochem 1972; 10:182-93.