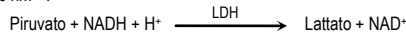




COD 11580 1 x 50 mL	COD 11581 1 x 200 mL
CONSERVARE A 2-8°C	
Reattivi per misurare la concentrazione di LDH Solo per uso <i>in vitro</i> nel laboratorio clinico	

PRINCIPIO DEL METODO

La lattato deidrogenasi (LD o LDH) catalizza la riduzione del piruvato per NADH, ottenendo lattato e NAD⁺. La concentrazione catalitica viene determinata a partire dalla velocità di consumo del NADH, letta a 340 nm^{1,2}.



CONTENUTO

	COD 11580	COD 11581
A. Reattivo	1 x 40 mL	1 x 160 mL
B. Reattivo	1 x 10 mL	1 x 40 mL

COMPOSIZIONE

- A. Reattivo: Tris 100 mmol/L, piruvato 2,75 mmol/L, cloruro di sodio 222 mmol/L, pH 7,2
B. Reattivo: NADH 1,55 mmol/L, sodio azide 9,5 g/L

ATTENZIONE: H302: Nocivo se ingerito. EUH031: A contatto con acidi libera gas tossici. P301+P312: IN CASO DI INGESTIONE accompagnata da malessere: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P330: Sciacquare la bocca.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C.

I Reattivi sono stabili sino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, purché conservati ben chiusi e si eviti la contaminazione durante l'uso.

Indicazioni di deterioramento:

- Reattivo: Presenza di particelle, torbidità, assorbanza del bianco inferiore a 1,200 a 340 nm (cuvetta da 1 cm).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Applicare le normali precauzioni necessarie per maneggiare tutti i reagenti di laboratorio. Scheda dati di sicurezza disponibile per utenti professionisti su richiesta. Lo smaltimento di tutto il materiale di scarto deve essere effettuato in conformità alle linee guida locali. Eventuali incidenti gravi che potrebbero verificarsi in relazione al dispositivo devono essere segnalati a BioSystems S.A.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Reattivo di Lavoro. Versare il contenuto del Reattivo B nel flacone del Reattivo A. Agitare delicatamente. Se si desidera preparare altri volumi, mescolare nella proporzione: 4 mL di Reattivo A + 1 mL di Reattivo B. Stabile 2 mesi a 2-8°C.

MATERIALE AGGIUNTIVO

- Analizzatore, spettrofotometro o fotometro con cuvetta termostabile a 37°C per letture a 340 nm.
- Cuvette da 1,0 cm di cammino ottico.

CAMPIONI

Siero o plasma raccolti con procedimenti standard. Separare quanto prima il siero o il plasma dagli elementi cellulari. Sottoporre il plasma a centrifugazione adeguata per eliminare le piastrine. Non utilizzare campioni emolizzati.

La lattato deidrogenasi nel siero o plasma è stabile 2 giorni a temperatura ambiente e 24 ore a 2-8°C. Utilizzare eparina come anticoagulante.

PROCEDURA

- Preriscaldare il Reattivo di Lavoro e lo strumento alla temperatura di reazione.
- Pipettare in una cuvetta: (Nota 1)

Reattivo di Lavoro	1,0 mL
Campione	20 µL

- Mescolare ed inserire la cuvetta nel fotometro. Avviare il cronometro.
- Dopo 30 secondi, annotare l'assorbanza iniziale ed effettuare nuove letture ogni minuto per 3 minuti.
- Calcolare l'incremento medio d'assorbanza al minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CALCOLI

La concentrazione di LDH nel campione viene calcolata a partire dalla seguente formula generale:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = U/L$$

Il coefficiente di estinzione molare (ϵ) del NADH a 340 nm è 6300, il cammino ottico (l) è 1 cm, il volume totale di reazione (Vt) è 1,02, il volume di campione (Vs) è 0,02, e 1 U/L equivale a 0,01667 $\mu\text{kat/L}$. Si deducono i seguenti fattori per calcolare la concentrazione catalitica:

$\Delta A/\text{min}$	$\times 8095 = U/L$ $\times 135 = \mu\text{kat/L}$
-----------------------	---

VALORI DI RIFERIMENTO

Temperatura di reazione	Adulti	
	U/L	$\mu\text{kat/L}$
37°C ¹	207 - 414	3,40 - 6,80

Questi valori si danno unicamente a titolo orientativo; si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca i propri intervalli di riferimento.

CONTROLLO DI QUALITA'

Si raccomanda l'uso di Siero di Controllo Titolato livello I (Cod. 18005, 18009 e 18042) e II (Cod. 18007, 18010 e 18043) per verificare la funzionalità del procedimento di misura.

Ogni laboratorio deve stabilire il proprio programma di Controllo di Qualità interno, così come procedimenti di correzione nel caso i controlli non corrispondano con le tolleranze accettabili.

CARATTERISTICHE METROLOGICHE

– Limite di rilevazione: 4,7 U/L = 0,078 $\mu\text{kat/L}$.

– Limite di linearità: 1250 U/L = 20,92 $\mu\text{kat/L}$. Qualora si ottengano valori superiori, diluire il campione 1/2 con acqua distillata e ripetere la determinazione.

– Ripetibilità (nella serie):

Concentrazione media	CV	n
324 U/L = 5,40 $\mu\text{kat/L}$	3,9%	20
1029 U/L = 17,15 $\mu\text{kat/L}$	2,3%	20

– Riproducibilità (fra le serie):

Concentrazione media	CV	n
324 U/L = 5,40 $\mu\text{kat/L}$	6,6%	25
1029 U/L = 17,15 $\mu\text{kat/L}$	3,3%	25

– Sensibilità: 0,123 $\Delta\text{mA} \cdot \text{L} \cdot \text{U} \cdot \text{min} = 7,41 \Delta\text{mA} \cdot \text{L} \cdot \mu\text{kat} \cdot \text{min}$.

– Veracità: I risultati ottenuti con questi reattivi non mostrano differenze sistematiche significative se comparati con reattivi di riferimento. I dettagli dello studio comparativo sono disponibili a richiesta.

– Interferenze: L'emolisi o la tardiva separazione del siero possono dare luogo a risultati elevati dovuti alla elevata concentrazione di LD negli eritrociti. La lipemia (trigliceridi < 10 g/L) e la bilirubina (< 20 mg/dL) non interferiscono. Altri farmaci e sostanze possono interferire³.

Questi dati sono stati ottenuti utilizzando un analizzatore. I risultati possono variare al cambiare di strumento o realizzando il procedimento manualmente.

CARATTERISTICHE DIAGNOSTICHE

La lattato deidrogenasi è presente in tutte le cellule dell'organismo ma le sue maggiori concentrazioni si riscontrano nel fegato, cuore, reni, muscolo scheletrico ed eritrociti.

La concentrazione di LDH nel siero o plasma è aumentata in pazienti con patologia epatica, alterazioni renali, infarto del miocardio, molti tumori maligni, distrofia muscolare progressiva ed in quasi tutte le cause di emolisi^{4,5}.

La diagnosi clinica non può essere fatta tenendo conto del risultato di un unico esame, ma deve integrare i dati clinici e di laboratorio.

NOTE

- Questi reattivi possono essere utilizzati sulla maggioranza degli analizzatori automatici. Sollecitate informazione al vostro distributore.

BIBLIOGRAFIA

- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de lactato deshidrogenasa en suero sanguíneo humano. Quim Clin 1989; 8: 57-61.
- Scientific Committee. Recommendations pour la mesure de la concentration catalytique de la lactate deshydrogenase dans le serum humain a 30°C. Ann Biol Clin 1982; 40: 87-164.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

