

Uso previsto

Determinazione cinetica quantitativa *in vitro* dell'attività della lattato deidrogenasi nel siero utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. **Solo su prescrizione.**

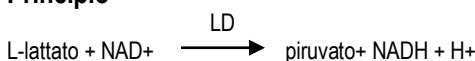
Interesse clinico

Livelli più elevati di LD sono associati all'infarto del miocardio. I valori raggiungono il picco massimo circa 48 ore dopo l'insorgenza del dolore e restano invariati per una decina di giorni. L'entità dell'innalzamento è utile per valutare la portata del danno ed elaborare una prognosi. Innalzamenti dei valori della LD si osservano anche nelle malattie epatiche, nell'anemia pernicioso, in alcune patologie renali e in alcuni traumi muscolari.¹

Storia del metodo diagnostico

Nel 1955 Wroblewski e Ladue² pubblicarono il primo metodo cinetico a raggi UV per la determinazione dell'attività della LDH nel siero. Il loro metodo si basava sul classico test di Kubowitz e Ott³ (1943) che utilizzava la reazione piruvato-lattato. Nel 1956, Wacker et al⁴ descrissero una procedura che seguiva la reazione lattato-piruvato. La reazione lattato-piruvato è diventata, benché più lenta la reazione di elezione⁵, per via di un intervallo lineare più ampio⁶ e dell'assenza di pre-incubazione⁷. Il metodo qui presentato segue la reazione diretta ed è stato ottimizzato per ottenere una maggiore sensibilità e linearità, come indicato da Gay et al.⁸

Principio



La lattato deidrogenasi catalizza l'ossidazione del lattato in piruvato e la contemporanea riduzione del NAD a NADH. La velocità di riduzione del NAD può essere calcolata misurando l'aumento di assorbanza a 340nm. Questa velocità è direttamente proporzionale all'attività della LD nel siero.

Composizione dei reagenti

Dopo aver combinato R1 e R2, il reagente contiene: NAD 5,8 mM, L-lattato 55 mM, tampone pH 8,95. Stabilizzatori non reattivi e sodio azide (0,1%) come conservante.

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti sotto forma di liquido pronto all'uso.

Conservazione e stabilità dei reagenti

Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla scadenza. Tenere al riparo dalla luce. Evitare la contaminazione microbica. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

Precauzioni e pericoli

1. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. Tutti i campioni e i controlli devono essere trattati secondo le buone pratiche di laboratorio, utilizzando opportune precauzioni descritte nel manuale CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2ª ed, 1988, HHS n. (CDC) 88-8395.
3. Il reagente contiene sodio azide (0,1%) come conservante. Non ingerire. Evitare il contatto con occhi e pelle. Il sodio azide anche reagire con il piombo e il rame delle tubature e formare un complesso metallo-azide altamente esplosivo. Quando si smaltisce il reagente, sciaccquare con grandi quantità d'acqua.

Pericoli:

R1 e R2: Classificazione dei pericoli: Sostanza o miscela non pericolosa.

Icone: Non necessarie.

Parole segnale: Non necessarie.

Indicazioni di pericolo: Sostanza o miscela non pericolosa.

Consigli di prudenza: Sostanza o miscela non pericolosa.

Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-L7572) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.

Raccolta e conservazione dei campioni

1. Si raccomanda di raccogliere siero non emolizzato. I globuli rossi contengono grandi concentrazioni di LD.⁵
2. Separare prontamente il siero non appena si forma il coagulo.
3. I campioni vanno analizzati appena prelevati. A temperatura ambiente, la LD nel siero risulta stabile per due o tre giorni.⁹
4. Non congelare o esporre il siero a temperature elevate (37°C), si potrebbero inattivare gli isoenzimi termolabili della LD.¹⁰
5. La raccolta dei campioni deve essere effettuata secondo le indicazioni del documento NCCLS M29-T2.¹¹ Nessun metodo può offrire la totale certezza che i campioni di sangue umano non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Interferenze

1. Alcuni farmaci e alcune sostanze alterano l'attività dell'LD. Si veda Young, et al.¹²
2. È stato riscontrato che livelli di bilirubina fino a 20 mg/dl producono un'interferenza trascurabile (≤ 5%) per questo esame.
3. Si è visto che l'emolisi interferisce significativamente con il test anche a livelli inferiori a 100 mg/dl.

Materiali in dotazione

Reagente (R1), tampone per lattato deidrogenasi

Reagente (R2), co-enzima per lattato deidrogenasi

Kit reagenti Lattato deidrogenasi Pointe

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatore Yumizen C560
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
3. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Limitazioni

1. Il siero emolizzato può portare a valori falsamente elevati di LD nel siero.
2. I campioni che superano il limite di linearità (1000 U/L) vanno diluiti con pari volume di soluzione fisiologica e nuovamente analizzati. Moltiplicare i risultati per due per compensare la diluizione.

Calibrazione

La procedura è standardizzata mediante l'assorbività millimolare del NADH, considerata pari a 6,22 a 340nm nelle condizioni di analisi descritte.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti di LD. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano dosaggi della LD. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Valori attesi ⁵

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

In considerazione dell'ampio ventaglio di condizioni (alimentari, geografiche, anagrafiche, ecc.) che si sa incidere sui range di riferimento, si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

Prestazioni

1. Intervallo di analisi: 2-1000 U/L. I campioni che superano il limite di 1000 U/L devono essere diluiti con pari volume di soluzione fisiologica e nuovamente analizzati e i risultati vanno moltiplicati per 2.
2. Correlazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

| Metodo | LDH |
|------------------------------|--------------------|
| N | 80 |
| LDH media (U/L) | 223,4 |
| Intervallo (U/L) | 88-866 |
| Deviazione standard | 153,8 |
| Analisi di regressione | $y = 0.964x - 8.1$ |
| Coefficiente di correlazione | 0,9995 |

3. Precisione: Gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS. ¹²

| Campione | Intra-giorn. | | |
|--------------------------------|--------------|-------|-------|
| | BASSA | MEDIA | ALTA |
| N | 20 | 20 | 20 |
| Media | 111,1 | 349,1 | 628,3 |
| Deviazione standard | 1,4 | 2,8 | 3,4 |
| Coefficiente di variazione (%) | 1,3% | 0,8% | 0,5% |

| Campione | Inter-giorn. | | |
|--------------------------------|--------------|-------|-------|
| | BASSA | MEDIA | ALTA |
| N | 40 | 40 | 40 |
| Media | 123,6 | 381,4 | 696,5 |
| Deviazione standard | 1,6 | 5,2 | 9,6 |
| Coefficiente di variazione (%) | 1,3% | 1,4% | 1,4% |

4. Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf): 2 U/l

Riferimenti bibliografici

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. Documento NCCLS M29-T2, 2nd Ed. (1991).
12. Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21: 1D (1975).
13. Documento NCCLS, "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

PARAMETRI CHIMICI

| | | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------------------|---|-----------|---------------------|--------------|
| Analisi chim.: | LDH | N. | 223 | Tipo campione: | Siero |
| Denominazione: | Lattato deidrogenasi | | | Nome etichetta: | LDH |
| Tipo reazione: | cinetica | | | Direzione reazione: | positiva |
| Lungh. d'onda prim.: | 340 | | | Lungh. d'onda sec.: | 412 |
| Unità: | U/L | | | Decimale | 0 |
| T. bianco: | 0 | 0 | | T. reazione: | 56 71 |
| | Vol. campione | Aspirato | Diluyente | Vol. reagente | Diluyente |
| Standard: | 7.3 ul | -- ul | -- ul | R1: | 120 ul -- ul |
| Decremento : | -- ul | -- ul | -- ul | R2: | 30 ul -- ul |
| Incremento: | -- ul | -- ul | -- ul | R3: | -- ul -- ul |
| | <input type="checkbox"/> Bianco camp. | <input checked="" type="checkbox"/> Ripetiz. automat. | | R4: | -- ul --- ul |
| Regolazione pendenza/ Offset | | | | | |
| Pendenza: 1 | | Offset: 0 | | | |

| | | | | |
|---|------|--|--|-------|
| Intervallo linearità (standard) | 2 | 1000 | Limite linearità: | 0.3 |
| Intervallo linearità (decremento) | --- | --- | Esaurim. substrato: | 25000 |
| Intervallo linearità (incremento) | --- | --- | Assorb bianco mix: | |
| Assorb bianco R1: | --- | --- | T. apertura | |
| Risp. bianco: | --- | --- | Limite allarme reag.: | |
| Doppia chim.: | | | <input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi | |
| <input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona | | <input type="checkbox"/> Controllo livello | <input type="checkbox"/> Aggiunta antigene | |
| Q1: | Q2: | Q3: | Q4: | |
| PC: | ABS: | | | |

Kit reagenti Lattato deidrogenasi Pointe

PARAMETRI DI CALIBRAZIONE

| | | | | | | |
|--|---------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|----------------|--------------|--------------|
| Definizione calibratore | | | | | | |
| Calibratore: | * | N. lotto: | | | * | |
| Data di scadenza: | * | | | | | |
| Caricatore | | Pos. | | | | |
| Caricatore campioni 1 | * | | | | | |
| Caricatore campioni 2 | | | | | | |
| Caricatore campioni 3 | | | | | | |
| Reagente/calibrazione | | | | | | |
| <u>Calibratore</u> | <u>Pos.</u> | <u>N. lotto</u> | <u>Data scad.</u> | <u>Analisi</u> | <u>Conc.</u> | <u>Unità</u> |
| Acqua | W | * | * | LDH | 0 | U/L |
| Configurazione calibrazione | | | | | | |
| Analisi chim.: | LDH | | | | | |
| <u>Impostazioni calibr.</u> | | | | | | |
| Modello mat.: | Fattore K | | | | | |
| Fattore: | 3505 | Repliche: 1 | | | | |
| <u>Limiti accettabilità</u> | | | | | | |
| T. calibr.: | 24 | h | | | | |
| Diff. pendenza: | -- | DS: | | -- | | |
| Sensibilità: | -- | | Ripetibilità: -- | | | |
| Coeff. deter.: | -- | | | | | |
| <u>Calibr. autom.</u> | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> Cambio fiasco | <input type="checkbox"/> Cambio lotto | <input type="checkbox"/> Ora cal. | | | | |

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-L7572-200



Prodotto da
HORIBA Instruments Incorporated-Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specifici. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg) **LOT** Codice lotto e gruppo **REF** N. catalogo

Fabbricante Limitazioni di temperatura Consultare il manuale di istruzioni