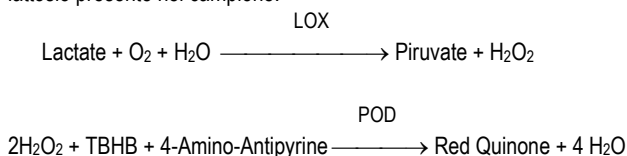


Determinazione quantitativa del Lattato nel Siero, Plasma o CSF. Metodo Enzimatico colorimetrico, LOX-POD.

**REF** CC1243 R1:3x20 mL + R2: 1x15 mL

### PRINCIPIO DEL METODO

Il lattato è ossidato dalla lattato ossidasi (LOX) in piruvato e perossido di idrogeno. Questo composto, in presenza dell'enzima Perossidasi (POD), forma, con 4-Amino-Antipirina e TBHB, un composto di colore rosso la cui intensità, misurata a 546 nm, è direttamente proporzionale alla quantità di lattosio presente nel campione.



### SIGNIFICATO CLINICO

È un sottoprodotto del metabolismo dell'acido lattico anaerobico. Un composto tossico per le cellule, il cui accumulo nel sangue è correlato alla comparsa della cosiddetta fatica muscolare. Il corpo umano dispone di sistemi di difesa per proteggersi dall'acido lattico e può riconvertirlo in glucosio grazie all'attività del fegato. Il cuore è invece in grado di metabolizzare l'acido lattico a fini energetici.

Tuttavia, un muscolo sotto sforzo può produrre, durante un esercizio faticoso, più acido lattico degli organi sopra citati e i restanti muscoli inattivi sono in grado di metabolizzare; in questo caso la concentrazione di acido lattico nel sangue aumenta al punto che non è più possibile smaltirlo nei muscoli attivi. Viene quindi attivata una via accessoria per la produzione di ATP chiamata meccanismo anaerobico dell'acido lattico. Questo fenomeno, pur compensando in parte la mancanza di ossigeno, aumenta la proporzione di acido lattico prodotto che a sua volta supera la capacità di neutralizzazione dell'organismo.

L'accumulo di lattato nell'organismo porterà ad una sempre crescente richiesta di ossigeno da parte delle fibre e ad un conseguente rallentamento della contrazione muscolare, fino al raggiungimento della tetania (crampo), ovvero un eccesso di stimolazione del muscolo che porta all'impossibilità di smaltimento dell'acido lattico muscolare.

Tuttavia, a causa del suo ciclo metabolico, una volta che i muscoli hanno ripreso la loro normale attività aerobica, l'acido lattico nel flusso sanguigno viene rapidamente eliminato dal flusso sanguigno (una chiara riduzione si vede già entro 60 secondi) mentre viene smaltito nel resto del corpo entro 2 o 3 ore dalla fine dell'attività fisica.

Solo una piccola parte rimane all'interno del muscolo, sempre a causa dell'attività anaerobica, ed è nota come "scoria naturale della contrazione muscolare".

### COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

#### Reagente (R1)

Tampone TRIS, pH 7.5	150 mmol/L
TBHB	2.5 mmol/L

#### Reagente (R2)

Tampone TRIS, pH 7.5	150 mmol/L
4-Amino-Antipyrine	0.3 mmol/L
Perossidasi (POD)	> 1000 U/L
Lattato Ossidasi (LOX)	300 U/L

### PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITÀ

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla fine della scadenza, se conservati tra +2° e +8° C, al riparo dalla luce e si evitano contaminazioni. Non congelare i reagenti.

Eliminare se compaiono segni di deterioramento: Presenza di particelle e torbidità.

- Mancato recupero dei valori di controllo entro l'intervallo assegnato -

### CAMPIONI

Siero, plasma (EDTA), liquido cerebrospinale  
Assolutamente, evitare campioni emolizzati (falsi positivi).  
Separare il siero o il plasma dalla massa eritrocitaria entro 15 minuti.  
Analizzare i campioni il prima possibile o congelarli a -20° C  
Eliminare i campioni contaminati.  
Agitare e portare i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

### PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 546 nm (492 - 550 nm)  
Temperatura: 20° - 37° C  
Misura: contro Bianco Reagente

Pipettare come segue:

Reagente R1 800 µL  
Campione, Std / Cal 10 µL

Miscelare, incubare 1 minuto a 37°C e aggiungere :  
Reagente R2 200 µL

Incubare per 5 minuti e leggere l'assorbanza (Abs) del Calibratore Controllo e Campione

### CALCOLO

$$\text{LATTATO (mg/dL)} = \frac{\text{Abs Campione}}{\text{Abs Calibratore}} \times \text{Conc. Cal.}$$

Fattore di conversione:

$$\text{Lattato [mg/dL]} \times 8.4097 = \text{Lattato [mmol/L]}$$

$$\text{Lattato [mmol/L]} \times 0.1123 = \text{Lattato [mg/dL]}$$

### CALIBRAZIONE

Usare **MTD Diagnostics Calibrator**:

**Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL)**

### CONTROLLO DI QUALITÀ

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

**Chemistry Control N - REF CNN1010** 10 x 5 mL (Level 1)

**Chemistry Control P - REF CNP1020** 10 x 5 mL (Level 2)

### VALORI ATTESI

Siero, Plasma 4.5 - 19.8 mg/dL (0.5 - 2.2 mmol/L)  
CSF (adulti) 10 - 22 mg/dL (1,1 - 6,7 mmol/L)

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

## PRESTAZIONI

### Precisione

Intra-assay precision n = 20	Mean [mg/dL]	CV [%]
Campione 1	15.3	1.44
Campione 2	22.8	1.41
Campione 3	27.8	0.67

### Accuratezza (Correlazione):

Un confronto tra il metodo **MTD Diagnostics** e un test disponibile in commercio utilizzando 50 campioni ha fornito i seguenti risultati:

$$y=1.06 x - 0.328 \quad r=0.998$$

Le prestazioni analitiche sono state generate utilizzando strumenti automatici. I risultati possono variare a seconda dello strumento.

**Linearità:** 1.-200 mg/dL.

**Sensibilità:** 1 mg/dL.

### INTERFERENZA E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza osservata con presenza nei campioni di, Bilirubina fino a 20 mg/dL, Emoglobina fino a 500 mg/dL e Trigliceridi fino a 2000 mg/dL.

### NOTE

- Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.
- La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

### PRECAUZIONI

R1 contiene Tampone TRIS 2.4 g/L – pH 8.2 - CAS 1185-53-1 - R36-37-38 (H319 – H335 – H315)

R36-37-38 (H319 – H335 – H315): Irritante per gli occhi, le vie respiratorie e la pelle

R2 contiene 4-AMINOANTIPYRINE 2.5 mmol/L – CAS 83-07-8 Xn R22 (H302).

R22(H302): Nocivo se ingerito.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Il prodotto è classificato ed etichettato secondo le direttive CE o le rispettive leggi nazionali. Sodio azide, inferiore allo 0,1%. Tuttavia, nel rispetto delle normali regole prudenziali che tutti devono mantenere nella gestione di qualsiasi reagente chimico o di laboratorio, in caso di contatto dei reagenti con l'operatore, è necessario applicare il seguente pronto soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDE DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

### SIMBOLOGIA

CE	CE Mark (EC Directive 98/79)		
	In Vitro Diagnostic		Temperature Limitation
	Consult instructions for use		Contains sufficient for <n> test
	Catalog Number		Use By
	Batch Code		Manufacturer

### BIBLIOGRAFIA

- Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6,24 (1969).
- Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin, 44, 686 (1986).
- Young, D.S. Effects of drugs on Clin. Lab. Tests, 4<sup>th</sup> ed AACC Press, 1995