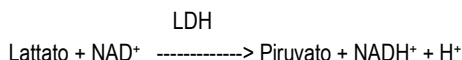


Determinazione quantitativa dell'attività dell'LDH (Lattico Deidrogenasi) nel siero o plasma. Metodo cinetico

REF CC1256 R1:3x40 mL + R2: 1x30 mL

PRINCIPIO DEL METODO

Questo metodo è conforme alle raccomandazioni dell'Internazionale Federazione di chimica clinica (IFCC).



La lattato deidrogenasi catalizza la conversione del lattato in piruvato; Il NAD viene ridotto a NADH durante il processo. Il tasso di aumento del NADH è direttamente proporzionale all'attività LDH.

SIGNIFICATO CLINICO

L'attività enzimatica presente in circolo è una miscela di cinque isoenzimi. Ogni organo ha un caratteristico profilo isoenzimatico. La fuoriuscita di questi isoenzimi da un organo malato provoca un aumento della LDH sierica totale. I livelli aumentati diventano evidenti 8-12 ore dopo l'infarto del miocardio raggiungendo un massimo 4-5 giorni dopo. Valori sierici elevati si riscontrano anche nei casi di embolia polmonare e in circa un terzo dei pazienti con malattia renale, in particolare quelli con pielonefrite o necrosi tubulare. Nell'epatite tossica con ittero, la malattia di Hodking e i tumori addominali e polmonari sono particolarmente elevati. Si osservano moderati aumenti anche nei casi di malattie epatiche, anemia megaloblastica e pernicioso e distrofia muscolare progressiva. Le diminuzioni non sono importanti clinicamente.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente R1:

2-Amino-methyl-propanol, pH 9.4325 mmol/L
Lithium lactate 50 mmol/L

Reagente R2

Imidazole 0.9 mmol/L
NAD⁺ 10 mmol/L

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati a +2° a 8° C e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Substrate Start:

Reagenti pronto all'uso

Sample Start:

Miscelare 4 part1 of R1 + 1 parte di R2

(E.g. 20 mL di R1 + 5 mL di R2) = Reagente di lavoro

Stabilità: 1 giorno a +2 - +8°C

Il reagente di lavoro va protetto dalla luce

Scartare se compaiono segni di deterioramento:

- Presenza di particelle e torbidità.

- Assorbanza del bianco(Abs) del reagente di lavoro a 340 nm <1.000.

CAMPIONI

Siero, plasma eparinico o plasma EDTA. Perdita di attività entro 3 giorni:

a 2 - 8 °C < 8 %

a 15 - 25 °C < 2 %.

Stabilità a -20 ° C per almeno 6 settimane. Scartare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 340 nm
Temperatura: 37°C
Misura: contro acqua distillata

Procedimento come Monoreagente (Campione Starter).

Pipettare come segue:

Soluzione Lavoro 1000 µL
Campione /Calibratore 20 µL

Miscelare, attendere 1 minuto e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs) e le Abs dopo 1,2 e 3 minuti esatti. Calcolare i Δ Abs/minuto

Procedimento come bi-reagente (Reagente Starter).

Reagente R1 800 µL
Campione /Calibratore 20 µL

Miscelare, attendere 1 minuto, quindi aggiungere:

Reagente R2 200 µL

Miscelare, attendere 1 minuto e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs) e le Abs dopo 1,2 e 3 minuti esatti. Calcolare i Δ Abs/minuto

CALCOLO

Con Fattore di Calcolo (lettura in cuvette di 1 cm di percorso ottico):

LDH (U/L)= Media Δ Abs/minuto x 8095

Con Calibratore Multiparametrico:

Calcola un fattore specifico utilizzando un calibratore multiparametrico certificato:

LDH (U/L) = ΔAbs/min x Fattore

Fattore di conversione: U/L x 0,0167 = µKat/L = µmol/sec/L

CALIBRAZIONE

Usare il Calibratore **MTD Diagnostics:**

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

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici ad attività enzimatica nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di **MTD Diagnostics:**

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Uomo: 135 - 225 U/L
Donna: 135 - 214 U/L
Bambino (2 - 15 anni) 120 - 300 U/L
Neonato (4 - 20 giorni) 225 - 600 U/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**

Mean	149	253	113	454
SD	2.60	5.72	2.06	2.55
CV%	1.74	2.26	1.82	1.54
N	10	10	10	0.56

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) usando 52 campioni ha dato la seguente correlazione:

$$y=1.031x + 3.147 ; r=0.99$$

SENSIBILITA': 5 U/L

LINEARITA': 5-1000 U/L

INTERFERENZA E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza osservata con presenza di nei campioni di acido ascorbico fino a 40 mg/dL, Bilirubina fino a 40 mg/dL e Trigliceridi fino a 2000 mg/dL. L'Emoglobina interferisce poiché LDH, contenuto ad alta concentrazione nelle emazie, viene da esse rilasciato in seguito ad emolisi.

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

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). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorché maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo 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.

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

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

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

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA;WB Saunders Company 1999p. 669.

Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986; 32:470-474.

Lorentz K, Röhle G. Einführung der neuen Standardmethoden 1994 zur Bestimmung der katalytischen Enzymkonzentration bei 37°C. Klein Chem Mitt 1995;26:190-193.

Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992.

Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders Company, 1984:251-282.

Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 3rd ed. Philadelphia, Pa: WBSaunders Company, 1995:384-385.

Van der Heiden C, Basis R, Gerhardt W, Lorentz K, Rosalki S. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994; 32L639-655.