

LDH Liquid

Metodo cinetico UV

R1: 5 x 50 ml + R2: 1 x 25 ml

CL41-275

USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa dell'enzima Lattato Deidrogenasi, LDH (EC 1.1.1.27.), nel siero e nel plasma.

SIGNIFICATO CLINICO

L'LDH è un enzima presente in tutte le cellule nel compartimento citoplasmatico. Valori elevati di LDH si riscontrano in affezioni epatiche (epatite), cardiache (infarto miocardico, scompenso congestizio), muscolari (traumi, miopatie), ematologiche, renali, polmonari, neoplasie.

PRINCIPIO

L'enzima LDH trasforma il piruvato in presenza di NADH in lattato e NAD⁺. Il consumo di NADH nell'unità di tempo, misurato a 340 nm, è proporzionale alla concentrazione di LDH nel campione.

CAMPIONE

Siero, plasma con eparina o EDTA.

Non usare ossalato come anticoagulante. Evitare campioni emolizzati.

STABILITÀ: L'attività dell'enzima LDH nel siero decresce dopo 5 giorni del 10 % a 4 - 25°C.

REAGENTI

Solo per uso diagnostico in vitro. Reagenti liquidi pronti all'uso.

I reagenti contrassegnati da un asterisco contengono sostanze pericolose.

Contenuto della confezione	CL41-275
REAGENT 1 Tampone Tris (pH 7,5) 88 mmol/L, piruvato 1,6 mmol/L, cloruro di sodio 200 mmol/L, sodio azide 15 mmol/L.	5 x 50 ml
REAGENT 2 Tampone Tris (pH 10,2) 10 mmol/L, NADH 2,4 mmol/L, sodio azide 15 mmol/L.	1 x 25 ml

STABILITÀ: i reagenti, se conservati a 2-8 °C e protetti dalla luce, sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Una volta aperti i reagenti sono stabili 2 mesi a 2-8°C se sono state evitate contaminazioni. Conservare i flaconi chiusi quando non in uso. Non utilizzare i reagenti in caso di torbidità.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Normale strumentazione di laboratorio. Spettrofotometro UV/VIS munito di termostatazione. Micropipette automatiche. Cuvette in vetro ottico o monouso in polistirolo ottico. Soluzione fisiologica.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE DI LAVORO

(solo per procedimento monoreagente)

Miscelare 10 volumi di Reagent 1 con 1 volume di Reagent 2.
STABILITÀ: 5 giorni a 20-25°C, 4 settimane a 2-8°C

PROCEDIMENTO MANUALE

Metodo:	cinetica in decremento
Lunghezza d'onda:	340 nm (334 - 365)
Cuvetta:	1 cm di cammino ottico
Temperatura:	30 o 37°C
Tempo di lettura:	3 minuti
Letture:	contro aria o acqua distillata
Ratio Campione/Reag.1/Reag.2	1/50/5

Procedimento bireagente

Portare i reagenti necessari per l'esecuzione del test alla temperatura prescelta per l'analisi. Pipettare in cuvetta:

Campione	20 µl
Reagent 1	1,0 ml

Miscelare ed incubare a 37°C per 1 minuto. Aggiungere:

Reagent 2	100 µl
-----------	--------

Miscelare e incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Leggere l'assorbanza iniziale, ripetere la lettura ad intervalli costanti di 1 minuto per 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ($\Delta A/min$).

Procedimento monoreagente

Portare il reagente di lavoro necessario per l'esecuzione del test alla temperatura prescelta per l'analisi.

Pipettare in cuvetta:

Campione	20 µl
Reagente di lavoro	1,0 ml

Miscelare e incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Leggere l'assorbanza iniziale, ripetere la lettura ad intervalli costanti di 1 minuto per 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ($\Delta A/min$).

I volumi di reazione (per entrambi i metodi) possono essere variati proporzionalmente senza alcuna modifica nel calcolo.

CALCOLO

Calcolare l'attività enzimatica nel campione analizzato moltiplicando il $\Delta A/min$ trovato per il fattore opportuno riportato nella seguente tabella.

λ	Procedimento monoreagente	Procedimento bireagente
334 nm :	8065	8888
340 nm :	8252	9061
365 nm :	15000	16000

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

30°C	37°C
140 ÷ 275 U/L	200 ÷ 430 U/L

E' comunque opportuno che ciascun laboratorio definisca il proprio intervallo di riferimento.

CONTROLLO DI QUALITÀ - CALIBRAZIONE

Si raccomanda un programma di Controllo Qualità a tutti i laboratori di Chimica Clinica. Allo scopo sono disponibili a richiesta sieri di controllo a base umana:

PRE-NORM sieri con valori nell'ambito della normalità

PRE-PATH sieri con valori patologici.

Se il metodo lo richiede è disponibile un calibratore multiparametrico a base umana.

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità

La sensibilità del metodo è di 15 U/L.

Linearità

Il metodo è lineare fino a 1500 U/L.

Per valori superiori diluire i campioni 1:10 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato ottenuto per 10.

Precisione

nella serie (n=10)	Media [U/L]	SD	CV %
Campione 1	302	3,2	1,1
Campione 2	486	7,6	1,6

tra le serie (n=20=)	Media [U/L]	SD	CV %
Campione 1	311	16	5,15
Campione 2	522	24	4,6

Interferenze

I lipidi non interferiscono fino a 2000 mg/dl come trigliceridi.

La bilirubina non interferisce fino ad una concentrazione di 40 mg/dl.

La presenza di emolisi nel campione dà origine a risultati falsi positivi.

Correlazione con metodo di riferimento

La correlazione del metodo (Y) con un metodo di riferimento (X) ha evidenziato la seguente equazione:

$$Y = 1,0803X - 5,3694 \quad r = 0,9987$$

SMALTIMENTO

Il prodotto deve essere utilizzato all'interno di analisi professionali.

Il prodotto va smaltito in conformità alla regolamentazione nazionale e o internazionale.

PRECAUZIONI

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura.

A scopo cautelativo è comunque opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione.

Utilizzare le normali precauzioni previste per il comportamento in laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

- Ann. Biol. Clin., 40, (1982), 123.)
- Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. 1989

PRODUTTORE

FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY








tel +39 045 6700870

sito web <http://www.farddiag.com>

e-mail: order@farddiag.com

e-mail: farddiag@farddiag.com

LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni d'uso