

REF 10215-4 4 x 29 ml/8 ml

LATTATO DEIDROGENASI (LDH)

Flaconi ciascuno contenente 29 ml di reagente R1 e 8 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

Il reagente per lattato deidrogenasi EasyRA è indicato per la misurazione quantitativa della lattato deidrogenasi (LDH) nel siero umano e nel plasma, utilizzando l'analizzatore chimico clinico MEDICA EasyRA.

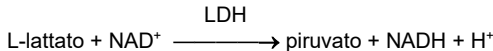
Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

La lattato deidrogenasi (LDH) è una combinazione di isoenzimi con livelli elevati nell'infarto miocardico, nelle patologie epatiche e renali, nell'anemia megaloblastica e nella distrofia muscolare avanzata.¹ È possibile effettuare una diagnosi di infarto miocardico acuto sulla base delle analisi combinate dei livelli di lattato deidrogenasi e creatinichinasi.²

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

La procedura del test enzimatico si fonda sul lavoro di Wacker³ e comprende i miglioramenti apportati da Buhl e Jackson.⁴ La lattato deidrogenasi catalizza l'ossidazione del lattato a piruvato e la riduzione conseguente di NAD a NADH secondo la seguente formula:



La percentuale di formazione di NADH (misurata tramite la sua assorbanza a 340 nm) è proporzionale all'attività della lattato deidrogenasi nel campione.

REAGENTI

Reagente tampone per lattato deidrogenasi (R1):

L-litio lattato	100 mmol/l
2-metil-2-ammino-1-propanolo (pH 8,8)	600 mmol/l

Reagente substrato per lattato deidrogenasi (R2):

NAD	6 mmol/l
-----	----------

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. I reagenti contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 2 – 8 °C. Il reagente rimane stabile on-board nel vano reagenti refrigerato nell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

È necessario usare siero o plasma pulito non emolizzato. Per la raccolta del plasma è possibile utilizzare provette con rivestimento in litio-eparina. Centrifugare ed eliminare il siero appena possibile dopo il prelievo, in quanto l'emolisi fa rilasciare agli eritrociti grandi quantità di lattato deidrogenasi. La lattato deidrogenasi serica è stabile per 3 giorni ad una temperatura di 2 – 8 °C. I campioni congelati mostrano una diminuzione dell'attività nei valori di lattato deidrogenasi.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente per lattato deidrogenasi Medica, REF 10215

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660, oppure

Flacone di detergente Medica – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore EasyRA situato nell'area reagenti refrigerata. La stabilità on-board (60 giorni massimo) è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

Nota: verificare che non sia presente schiuma nella parte interna del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e aver collocato il flacone sull'analizzatore. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test. Usare pipette monouso o tamponi diversi per i reagenti R1 e R2.

Calibrazione

Non applicabile.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi quotidianamente, ogni volta che vengono eseguiti i test di un paziente e il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve inoltre attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore EasyRA calcola la concentrazione di lattato deidrogenasi dal cambiamento di assorbanza al minuto, dal volume del campione, dal volume di reazione totale, dalla lunghezza di 0,6 cm del cammino ottico e dalla assorbività molare di 6,22.

$$\text{LDH (U/l)} = (\Delta A/\text{min}) \times \frac{(\text{volumetotale}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{assorbività molare} \times \text{camminoottico}(\text{cm}) \times \text{volumecampione}(\mu\text{l}))}$$

Un'unità/litro (U/l) di attività della lattato deidrogenasi è la quantità di enzima che produce una $\mu\text{mol/l}$ di NADH al minuto.

Valori attesi⁵

L'intervallo di riferimento per la lattato deidrogenasi serica è il seguente:

Maschio: 80 - 285 U/l (37 °C)

Femmina: 103 - 227 U/l (37 °C)

Tali valori rappresentano esclusivamente delle linee guida consigliate. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es. se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

Se il cambiamento di assorbanza al minuto ($\Delta A/\text{min}$) è superiore a 0,1082, corrispondente all'incirca a 800 U/l, l'analizzatore lo contrassegna con "SD" (deplezione substrato). Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile della lattato deidrogenasi viene esteso a 1.600 U/l.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁶

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 5 e 800 U/l. L'intervallo esteso è compreso tra 5 e 1.600 U/l quando viene usata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del reagente per lattato deidrogenasi Medica (y) su un analizzatore EasyRA con la prestazione di un reagente per lattato deidrogenasi simile (x) sull'analizzatore Roche COBAS MIRA*. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore EasyRA a fronte della media di due valori ripetuti ottenuti sull'analizzatore COBAS MIRA.

Numero di campioni	59	Intervallo dei campioni	da 5 a 779 U/l
Pendenza	0,99	Intercetta y	8,4
Coefficiente di correlazione	0,9980	Equazione di regressione	$Y = 0,99 * X + 8,4$

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e plasma (y) utilizzando il reagente per LHD Medica sull'analizzatore EasyRA. I dati che seguono rappresentano una sola misurazione del plasma rispetto alla media di due valori replicati del siero.

Numero di campioni	47	Intervallo dei campioni	da 10 a 696 U/l
Pendenza	0,9975	Intercetta y	2,825
Coefficiente di correlazione	0,9949	Equazione di regressione	$Y = 0,9975 * X + 2,825$

*Cobas Mira è un marchio registrato di Roche Diagnostics Operations, INC., Indianapolis, IN.

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC U/l	SD intra-serie U/l	CV intra-serie %
331,5	4,0	1,2
204,5	3,3	1,6
99,5	1,3	1,3

Imprecisione totale:

Livello QC U/l	SD imprecisione totale U/l	CV imprecisione totale %
331,5	7,3	2,2
204,5	4,8	2,4
99,5	1,9	1,9

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 5 a 800 U/l, basata sull'equazione di regressione lineare $Y = 1,017 * X + 14,48$.

Sostanze interferenti (CLSI, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".

L'interferenza con l'emoglobina si presenta significativa. Non utilizzare campioni emolizzati.

In livelli fino a 20 mg/dl di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 2.000 mg/dl di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

*Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con i test chimici clinici.^{7, 8}

RIFERIMENTI

1. Kachmar JF, Moss DW in Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., NW Tietz, editor (W.B Saunders, Eds. Philadelphia USA) 1976: 652.
2. Roe CR et al. J Lab Clin Med 80:557 (1972).
3. Wacker WEC et al, New England J Med 255: 449 (1956)
4. Buhl SN, Jackson KY, Clin. Chem. 24:828 (1978).
5. Henry, RJ, Carman DC, and Winkelman JW. *Clinical Chemistry. Principles and Techniques*. Hagerstown, MD: Harper and Row. pp 819-831 (1974).
6. Dati in archivio presso Medica.
7. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
8. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

Parametri dell'analisi EasyRA (LDH)

Lunghezza d'onda (nm)	340
Tipo di reazione	Enzima (0)
Direzione di reazione	Aumento
Bianco reagente	No
Bianco campione	No
Primo interv. max. camb. assorb.	0,055
Tempo di reazione	4,4 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	N/D
Stabilità on-board del reagente	60 giorni

Siero/Plasma

Volume del campione (μ l)	7,0
Volume del diluente (μ l)	20
Volume del reagente (R1) (μ l)	132
Volume del reagente (R2) (μ l)	34
Posizioni decimali (valori predefiniti)	0
Unità (valori predefiniti)	U/l
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Linearità	da 5 a 800 U/l
Assorbività molare	6,22