



Kit per la determinazione della lattato deidrogenasi nel siero o plasma - Metodo cinetico ottimizzato SCE*

*Scandinavian Committee on Enzymes

PRINCIPIO

La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la reazione di riduzione dell'acido piruvico ad acido L-lattico con ossidazione del NADH a NAD⁺. La velocità con la quale si ossida il NADH, misurata a 340nm, consente di determinare l'attività della LDH nel campione in esame.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Tampone di Goods pH 7.3 70.0 mmol/l; EDTA Na₂ 4.0 mmol/l;
acido piruvico 1.2 mmol/l
R2 Tampone di Goods pH 7.3 70.0 mmol/l; NADH 1.20 mmol/l

CAMPIONI

- Siero o plasma anticoagulato con eparina o EDTA.

Note

- Non utilizzare campioni emolizzati.
- Il siero deve essere separato al più presto dalla parte corpuscolata.
- L'attività della LDH diminuisce dell'8% entro 3 giorni a 2-8°C.

VALORI DI RIFERIMENTO

Adulti [U/l]	25°C	30°C	37°C
	< 240	< 346	< 480

Sotto i 12 anni d'età il livello di LDH è più elevato del 10-15% rispetto a quello degli adulti.

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.
- Dopo l'apertura, i flaconi **R1** ed **R2** sono stabili fino alla data di scadenza indicata se chiusi immediatamente dopo il prelievo, protetti da contaminazione, evaporazione, luce diretta e conservati alla temperatura corretta.
- Stabilità della soluzione di lavoro (**R1 + R2**): 15 giorni a 2-8°C.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

I reattivi sono liquidi e pronti all'uso. Per l'utilizzo come monoreattivo (procedimento "campione starter") aggiungere ad ogni 4 ml del reattivo **R1**, 1 ml del reattivo **R2**. Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.
- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è < 1.000 a 340 nm.
- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti non attivi (conservanti, detergenti ecc..) è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.

È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda λ: 340 nm (334 o 365 nm)
Temperatura di lavoro 37°C (25 o 30°C)
Cammino ottico 1 cm
Tipo di reazione cinetica (in decremento)

Portare i reattivi a 15-25°C prima del loro utilizzo.

- PROCEDIMENTO MONOREATTIVO "campione starter"

REATTIVO DI LAVORO	BIANCO	CAMPIONE
ACQUA DISTILLATA	1000 µl	1000 µl
CAMPIONE	20 µl	--
	--	20 µl

Agitare poi incubare 1 min. a 37°C. Leggere i valori di estinzione del campione (EC) contro acqua distillata al tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare la variazione di estinzione ΔE/min dalle letture eseguite.

- PROCEDIMENTO BIREATTIVO "substrato starter"

REATTIVO R1	BIANCO	CAMPIONE
ACQUA DISTILLATA	800 µl	800 µl
CAMPIONE	20 µl	--
	--	20 µl

Mescolare poi incubare a 37°C per circa 1 min. quindi aggiungere:

REATTIVO R2	BIANCO	CAMPIONE
	200 µl	200 µl

Agitare poi incubare 1 min. a 37°C. Leggere i valori di estinzione del campione (EC) contro acqua distillata al tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare la variazione di estinzione ΔE/min dalle letture eseguite.

CALCOLO

$$LDH [U/l] = \Delta E/min \times 8095$$

Il fattore e le prestazioni del reattivo sono riferite a 37°C e 340 nm.

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Interferenze

La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 40 mg/dl. I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 2000 mg/dl. L'acido ascorbico non interferisce sino alla concentrazione di 30 mg/dl.

Linearità

La reazione è lineare sino ad una attività di 800 U/l (corrispondente ad un ΔE/min di 0.099 a 340 nm). Campioni superiori a 800 U/l devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High). Risultati ottenuti:

MEDIA (U/l)	L = 91.00	N = 184.90	H = 345.80
D.S.	3.36	5.35	8.10
C.V.%	3.70	2.89	2.34

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA (U/l)	L = 109.47	N = 209.20	H = 385.07
D.S.	3.73	4.01	6.73
C.V.%	3.39	1.93	1.75

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 17 U/l.

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione **r = 0.97**

BIBLIOGRAFIA

Kreutzer, H. H. et al., Clin. Chim. Acta, 9, 64, (1964).
Young, D.S. et al., Clin. Chem., 21 ID 432D, (1975).
Fischbach, F., Zawta, B., Klin. Lab., 38:555-61, (1992).
Kaplan, L.A., Pesce, A.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996)

SIMBOLOGIA



Consultare istruzioni per l'uso



Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante



For in vitro medical device
10118 - 4x20 ml
V10118 - 5x20+5x5 ml

Kit for measurement of lactate dehydrogenase in serum or plasma Kinetic optimized method SCE*

*Scandinavian Committee on Enzymes

PRINCIPLE

Lactate dehydrogenase (LDH) catalyzes the reaction between pyruvic acid and NADH. The NADH oxidization into NAD⁺ allows to determine the LDH in the tested sample.

REAGENTS

R1 Goods buffer pH 7.3 70.0 mmol/l; EDTA Na₂ 4.0 mmol/l;
pyruvic acid 1.2 mmol/l
R2 Goods buffer pH 7.3 70.0 mmol/l; NADH 1.20 mmol/l

SAMPLE

- Serum or heparinized plasma or EDTA plasma.

Note

- Do not use samples with haemolysis.
- The serum must be separated, as soon as possible, from corpuscular part.
- The LDH activity decreases in 8% within 3 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Adults [U/l]	25°C	30°C	37°C
	< 240	< 346	< 480

The LDH level in children (till 12 years old) is 10-15% higher than in the adults. Reference values are considered indicatives since each laboratory should establish reference ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- After opening, the vials **R1** and **R2** are stable up to the expiry date if recapped immediately and protected from contamination, evaporation, direct light, and stored at the correct temperature.
- Working solution stability (**R1**+ **R2**): 15 days at 2-8°C.

PREPARATION OF REAGENTS

Reagents are liquid and ready to use. About using as monoreagent ("sample-starter" procedure) add to every 4 ml of **R1** reagent, 1 ml of **R2** reagent. Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is < 1.000 at 340 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm REF 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of inactive components (preservatives, surfactants and so on) is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances.

However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength λ : 340 nm (334 o 365 nm)
Working temperature 37°C (25 o 30°C)
Optical path 1 cm
Reaction kinetic (decreasing)

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

- MONOREAGENT PROCEDURE "sample starter"

WORKING REAGENT	BLANK	SAMPLE
DISTILLED WATER	1000 μ l	1000 μ l
SAMPLE	20 μ l	--
	--	20 μ l

Mix, then incubate for 1' a 37°C. Measure the absorbance of sample (EC) against distilled water decrease per minute during 3 minutes. Calculate the absorbance variation $\Delta E/\text{min}$ from readings executed.

- BIREAGENT PROCEDURE "substrate starter"

REAGENT R1	BLANK	SAMPLE
DISTILLED WATER	800 μ l	800 μ l
SAMPLE	20 μ l	--
	--	20 μ l

Mix, incubate at 37°C for 1' and then add:

REAGENT R2	BLANK	SAMPLE
	200 μ l	200 μ l

Mix, then incubate for 1' a 37°C. Measure the absorbance of sample (EC) against distilled water decrease per minute during 3 minutes. Calculate the absorbance variation $\Delta E/\text{min}$ from readings executed.

CALCULATION

$$\text{LDH [U/l]} = \Delta E/\text{min} \times 8095$$

The factor and the reagent performances are related to 37°C and 340 nm.

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences

Bilirubin does not interfere up to concentration of 40 mg/dl.
Triglycerides do not interfere up to concentration of 2000 mg/dl.
Ascorbate acid does not interfere up to concentration of 30 mg/dl.

Linearity

Reaction is linear up to an activity of 800 U/l (corresponding to $\Delta E/\text{min}$ of 0.099 at 340 nm). Samples with values exceeding 800 U/l must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).

Results:

MEAN (U/l)	L = 91.00	N = 184.90	H = 345.80
S.D.	3.36	5.35	8.10
C.V.%	3.70	2.89	2.34

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 15 samples for each control (L-N-H) for 3 days.

Results:

MEAN (U/l)	L = 109.47	N = 209.20	H = 385.07
S.D.	3.73	4.01	6.73
C.V.%	3.39	1.93	1.75

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 17 U/l.

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor $r = 0.97$

BIBLIOGRAPHY

Kreutzer, H. H. et al., Clin. Chim. Acta, 9, 64, (1964).
Young, D.S. et al., Clin. Chem., 21 ID 432D, (1975).
Fischbach, F., Zawta, B., Klin. Lab., 38:555-61, (1992).
Kaplan, L.A., Pesce, A.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996)

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer