



ALDOLASE

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA ENZIMATICA CINETICA UV dell'ALDOLASI su SIERO e PLASMA
con analizzatore MINDRAY BS-300



500 tests (1 x 100 mL)

REF ZZALD100

DESTINAZIONE D'USO

L'Aldolasi è un enzima che catalizza una reazione aldolica opposta. Il substrato, fruttosio 1,6-bisfosfato (F-1,6-BP) viene spezzato in gliceraldeide-3-fosfato e diidrossiaceton fosfato (DHAP). Questa reazione è una parte della glicolisi. L'Aldolasi aiuta il muscolo a trasformare lo zucchero in energia. La determinazione dell'Aldolasi viene fatta per diagnosticare e monitorare le malattie del muscolo scheletrico.

La fragilità muscolare può essere causata da problemi muscolari o da quelli neurologici. La misura dei livelli di Aldolasi può aiutare ad identificare la causa. I livelli di Aldolasi saranno normali dove la fragilità muscolare è causata da malattie neurologiche, come poliomieliti o sclerosi multipla; ma i livelli di Aldolasi saranno elevati nel caso di malattie muscolari, come nella distrofia muscolare (in particolare quella di Duchenne).

L'Aldolasi si trova anche nel fegato e nel muscolo cardiaco. Lesione o malattia di questi organi, come epatite cronica o infarto cardiaco, incrementeranno i livelli di Aldolasi nel sangue, ma in un grado minore.

Livelli di Aldolasi più elevati dei valori normali saranno dovuti anche a dermatomiositi, mononucleosi infettiva, tumori pancreatico-epatici o prostatici, infarto del miocardio e polimiositi. Inoltre si deve considerare che lo strenuo esercizio fisico può temporaneamente incrementare il livello di aldolasi in una persona.

PRINCIPIO

Questo reagente determina in vitro l'attività dell'Aldolasi; in presenza del substrato D-Fruttosio-1,6-bisfosfato, e degli enzimi che regolano le reazioni accessorie, TIM (triosofosfato isomerasi), GDH (glicerolo-3P-deidrogenasi), LDH (lattato deidrogenasi), l'Aldolasi provoca il consumo del medesimo substrato e, alla fine delle reazioni accessorie, la trasformazione da NADH a NAD.

La diminuzione di assorbanza di NADH, per ossidazione, permette di determinare l'attività della aldolasi nel campione.

PRECAUZIONI D'USO

1. Questo prodotto è stato formulato per uso diagnostico in vitro.
2. Una variazione proporzionale dei volumi di reazione non modifica il risultato.
3. NON miscelare tra loro Reagenti da diversi lotti di produzione.
4. Per concentrazioni di Aldolasi maggiori di 27 U/L, diluire il campione 1:10 con soluzione fisiologica, ritestare e moltiplicare il risultato x 10.
5. Oltre alle eventuali indicazioni di rischio, il Reagente contiene conservanti (sodio azide o altri), la cui concentrazione totale è inferiore ai limiti riportati nelle Dir. 67/548/CEE e 88/379/CEE e relative modifiche per la classificazione, etichettatura ed imballaggio di preparati pericolosi (Reagenti). Tuttavia si raccomanda di manipolare i reagenti con cautela, evitandone l'ingestione ed il contatto con gli occhi, la pelle e le mucose; di seguire quindi le norme di buona pratica di laboratorio nell'utilizzo di questi materiali. Nelle schede di sicurezza vengono descritte le procedure operative per la manipolazione di questo prodotto. Le

schede di sicurezza vengono fornite su richiesta.

ATTENZIONE!

A) Le applicazioni su analizzatori di routine possono essere totalmente diverse da quanto sviluppato come determinazione manuale; inoltre le procedure sono specifiche per ciascun analizzatore.

B) Elevata attenzione deve essere data alle sostanze interferenti: alcuni farmaci ed altre sostanze potrebbero influenzare i livelli od il dosaggio di Aldolasi (cfr Bibliografia 2).

C) Il Reagente deve essere impiegato SOLO per l'uso indicato, da personale esperto e addestrato, seguendo le norme della buona pratica di laboratorio.

D) La diagnosi clinica non può essere fatta correttamente usando il risultato di un solo test, ma deve essere fatta integrando criticamente i risultati di diversi test di laboratorio con differenti dati clinici.

E) Una serie di fattori, quali la temperatura ambientale, la temperatura dei reagenti di lavoro, l'accuratezza dei lavaggi e il tipo di spettrofotometro, possono influire sulle prestazioni del test.

F) La curva di calibrazione deve essere sempre ripetuta ad ogni cambio di lotto del Reagente e/o del calibratore.

G) Per la manipolazione dei Reagenti devono essere osservate le precauzioni normalmente adottate in laboratorio.

Tutti i calibratori e controlli vanno considerati come campioni umani, quindi potenzialmente infettivi; devono quindi essere adottate tutte le misure di protezione adeguate allo scopo di evitare ogni tipo di potenziale rischio biologico.

REAGENTI

Composizione del kit:

R1 - BUFFER

Collidina buffer 56 mmol/L pH 7.4
F-1.6-PP 3 mmol/L

R2 - NADH

NADH 0.22 mmol/L

Na₃ < 0.1%

R3 - GDH, TIM, LDH

GDH ≥ 300 U/L
TIM ≥ 4000 U/L
LDH ≥ 500 U/L

STABILITÀ: i Reagenti chiusi sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulle etichette, se conservati nel loro contenitore primario integro, a 2-8°C se non esposti a fonti termiche e/o variazioni di pressione. In caso di danneggiamento del contenitore primario provvedere allo smaltimento.

REAGENTI AUSILIARI PER IL CONTROLLO QUALITÀ

Per garantire l'adeguata prestazione del test utilizzare i seguenti kit (vedere le relative informazioni d'uso (IFU)):

- ALDOLASE CALIBRATOR Iyo
- NORMAL CONTROL SERUM Iyo
- PATHOLOGICAL CONTROL SERUM Iyo

REF ALDCAL MB
REF OG15500
REF OG15600

La curva di calibrazione deve essere sempre ripetuta ad ogni cambio di lotto del Reagente e/o del calibratore.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE DI LAVORO





ALDOLASE

R1 - BUFFER: diluire il contenuto di un flacone con acqua distillata per portarlo a 50 mL; mescolare gentilmente fino a completa dissoluzione.

R2 - NADH: diluire il vial con 2 mL di acqua distillata; mescolare gentilmente fino a completa dissoluzione.

R3 - GDH, TIM, LDH: sospensione pronta per l'uso.

Mescolare gentilmente e portare i Reagenti alla temperatura di lavoro prima dell'uso.

Chiudere immediatamente dopo l'impiego. I prodotti vanno manipolati in modo adeguato, tale da evitare ogni contaminazione.

L'uso non competente ci solleva da ogni responsabilità.

STABILITA' DEL REAGENTE DI LAVORO

R1 - BUFFER diluito è stabile 4 settimane a 2-8°C al buio.

R2 - NADH diluito è stabile 4 settimane a 2-8°C al buio.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Normale attrezzatura da laboratorio.

Micropipette in grado di erogare da 3 a 1000 µL.

Puntali monouso per micropipette.

Provette in vetro trasparente per la diluizione dei campioni.

Soluzione fisiologica, acqua distillata, Controlli.

Spettrofotometro od analizzatore automatico di chimica clinica.

CAMPIONI

• Siero fresco non emolizzato.

• Plasma (EDTA o eparina) fresco non emolizzato.

Raccolta dei campioni in accordo con CLSI (NCCLS)

(cfr Bibliografia 3).

I campioni possono essere conservati fino a 6 giorni a 2-8°C

(cfr. Bibliografia 1).

SMALTIMENTO DEI MATERIALI

Per lo smaltimento dei rifiuti attenersi alle regolamentazioni locali vigenti.

PROCEDURA ANALITICA su

SPETTROFOTOMETRO MANUALE

- Lunghezza d'onda: 340 nm (334-365 nm)
- Cammino ottico: 1 cm
- Lettura: contro aria o acqua distillata
- Temperatura: 37°C
- Metodo: cinetico
- Reazione: 20 minuti
- Rapporto campione/reagente: 1/12.5

Portare i reagenti alla temperatura di lavoro prima dell'uso.

Pipettare in una provetta o in una cuvetta così etichettata:

R/B: bianco reagente, S: campione, ST: calibratore:

	R/B	ST	S
R1 - BUFFER diluito	2500 µL	2500 µL	2500 µL
Soluzione fisiologica	200 µL	----	----
Calibratore	----	200 µL	----
Campione	----	----	200 µL
R2 - NADH diluito	50 µL	50 µL	50 µL
R3 - GDH, TIM, LDH	10 µL	10 µL	10 µL

Miscelare attentamente e incubare per 5 minuti a 37°C.

Leggere l'assorbanza iniziale del calibratore (Ast1) e del campione (As1) contro il bianco reagente (R/B1).

Dopo 20 minuti esatti di incubazione a 37°C, leggere nuovamente le assorbanze del calibratore (Ast2) e del campione (As2) contro il bianco reagente (R/B2). Calcolare:s

$\Delta R/B = R/B1 - R/B2$ per il bianco reagente

$\Delta AST = Ast1 - Ast2$ per il calibratore

$\Delta AS = As1 - As2$ per il campione

ATTENZIONE!

Il kit è sperimentato per spettrofotometro manuale e per sistemi HITACHI, COBAS e MINDRAY.

Le applicazioni su analizzatori automatici possono essere totalmente diverse da quanto sviluppato come determinazione manuale.

VALORI DI RIFERIMENTO (cfr Bibliografia 1)

Valori normali Aldolasi: 1.2 - 8.8 U/L

Poiché i valori normali dipendono dall'età, dal sesso, dalla dieta, dall'area geografica e da altri fattori, ogni laboratorio deve stabilire i propri valori normali per questa procedura.

CALCOLO

Usare questa formula generale per calcolare la concentrazione:

$$\text{ALDOLASI (U/L, 37°C)} = \frac{(\Delta As - \Delta R/B)}{(\Delta Ast - \Delta R/B)} \times \text{conc. del calibratore}$$

PRESTAZIONI ANALITICHE

(validate su MINDRAY BS300)

Le prestazioni del Reagente **ALDOLASE** sono state sperimentate con un analizzatore MINDRAY BS-300. I dati, pur rappresentando le caratteristiche del prodotto, potrebbero variare per ogni singolo laboratorio e per i diversi analizzatori.

Limitazioni del metodo: non sono conosciute limitazioni.

Linearità del metodo: il test è lineare fino a 27 U/L.

Per concentrazioni di Aldolasi maggiori di 27 U/L, si raccomanda di diluire il campione 1:10 con fisiologica, ristare e moltiplicare il risultato x 10.

Sensibilità del metodo (LoD): il limite di sensibilità, ovvero la concentrazione minima che può essere distinta dallo zero è 0.9 U/L.

Interferenze: cfr Bibliografia punto 2.

Criterio delle prove di interferenza: recupero $\pm 10\%$ del valore iniziale. Non si sono osservate interferenze su campioni con:

- bilirubina totale fino a 40 mg/dL;
- emoglobina fino a 450 mg/dL;
- lipemia [Intralipid®] fino a 2000 mg/dL;
- acido ascorbico fino a 50 mg/dL.

Precisione nella serie: determinata su 20 replicati di due campioni.

I risultati ottenuti sono i seguenti:

Campione	Media (U/L) $\pm 2s$	CV%
Umano 1	13.9 \pm 0.6	2.0
Umano 2	18.5 \pm 1.9	5.0

Precisione tra le serie: determinata per 5 giorni su 20 replicati al giorno per due campioni.

I risultati ottenuti sono i seguenti:





ALDOLASE

Campione	Media (U/L) \pm 2s	CV%
Umano 1	13.1 \pm 0.8	3.2
Umano 2	19.3 \pm 1.2	3.1

Accuratezza: un gruppo di 20 sieri è stato testato con questa procedura ed usando un reagente simile disponibile in commercio. Il confronto ha dato i seguenti risultati:

Regressione lineare $y = 1.0137x + 0.153$
Coefficiente di correlazione $r = 0.9931$ $n = 20$

BIBLIOGRAFIA

1. Textbook of Clinical Chemistry, Ed. by N.W. Tietz,

- W.B. Saunders Co., Philadelphia (1999).
2. Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).
3. CLSI(NCCLS) C49-A/H56-A: Collection, Handling, Transport and Storage for Body Fluids. Quick Guide.
4. Beisenherz, G., et al., Z. Naturforsch., 8(b), 555 (1953).

Codice Ramo CND W01010104





ALDOLASE

ALDOLASE QUANTITATIVE ENZYMATIC KINETIC UV ASSAY on SERUM and PLASMA
with MINDRAY BS-300 Analyzer



500 tests (1 x 100 mL)

REF ZZ ALD100

INTENDED USE

Aldolase is an enzyme that catalyses a reverse aldol reaction. The substrate, fructose 1,6-biphosphate (F-1,6-BP) is broken down into glyceraldehyde-3-phosphate and dihydroxyacetone phosphate (DHAP). This reaction is a part of glycolysis. Aldolase helps muscle turn sugar into energy. Testing for Aldolase is done to diagnose and monitor skeletal muscle diseases.

Muscle weakness may be caused by neurologic as well as muscular problems. The measurement of Aldolase levels can help pinpoint the cause. Aldolase levels will be normal where muscle weakness is caused by neurological disease, such as poliomyelitis or multiple sclerosis; but aldolase levels will be elevated in cases of muscular disease, such as muscular dystrophy (in particular Duchenne's one).

Aldolase is also found in the liver and cardiac muscle. Damage or disease to these organs, such as chronic hepatitis or a heart attack, will also increase aldolase levels in the blood, but to a lesser degree.

Aldolase levels greater than the normal values will be also due to dermatomyositis, infectious mononucleosis, liver pancreatic or prostate cancer, myocardial infarction and polymyositis.

Also, have to be considered that strenuous exercise can temporarily increase the aldolase level in a person.

PRINCIPLE

This Reagent determines the Aldolase activity in vitro; in the presence of the substrate D-Fructose-1,6-bisphosphate and of the enzymes who manage the ancillary reactions, TIM (triosephosphate isomerase)-GDH(glycerol-3P-dehydrogenase)-LDH(lactate dehydrogenase), at the end the aldolase change NADH to NAD.

The decrease of absorbance of NADH, for oxidation to NAD, is proportional to the activity of the Aldolase in the sample.

PRECAUTIONS FOR USE

1. This product has been formulated for in vitro diagnostic use.
2. A proportional variation of the reaction volumes does not change the result.
3. DO NOT mix Reagents from different Production lots.
4. For concentration of Aldolase higher than 27 U/L, dilute the sample 1:10 with saline solution, repeat the determination and multiply the result by 10.
5. In addition to the possible risk indications, the Reagent can contain preservatives (as sodium azide or others), which total concentration is lower than the limits mentioned in Dir. 67/548/CEE e 88/379/CEE and following modifications regarding classification, labelling and packaging of dangerous preparations (Reagents). However it is recommended to handle the reagents carefully, avoiding ingestion and contact with eyes, mucous membranes and skin; to use reagents according to good laboratory practice. On the material safety data sheet are detailed the operating procedures for the manipulation of this product. Material safety data sheet should be supplied on request.

ATTENTION!

A) Applications on routine analyzers may be totally different from what developed as manual determination; in addition the procedures are specific for each analyzer.

B) Very deep attention must be given to interfering substances: certain drugs and other substances are able to influence levels of Aldolase (see References 2).

C) The reagent must be used ONLY for the intended destinations, by expert and trained people and in according to good laboratory practice.

D) The clinical diagnosis cannot be done correctly using the result of only one test, but have to be done integrating critically the results of different laboratory tests and clinical data.

E) A lot of factors, as ambient temperature, the working reagent temperature, wash accuracy and the type of spectrophotometer, may affect the tests performances.

F) The calibration curve has to be always repeated at each change of the lot of the Reagent and/or calibrator.

G) All the precautions normally used in the laboratory must be respected for reagents handling.

All the calibrators and controls must be considered as human sample, so potentially infectious; all the protection actions must be applied to avoid any potential biological risk.

REAGENTS

Components of the kit:

R1 - BUFFER

Collidine buffer 56 mmol/L pH 7.4
F-1.6-PP 3 mmol/L

R2 - NADH

NADH 0.22 mmol/L
NaN3 < 0.1%

R3 - GDH, TIM, LDH

GDH ≥ 300 U/L
TIM ≥ 4000 U/L
LDH ≥ 500 U/L

STABILITY: the Reagents are stable up to the expiry date mentioned on the labels, stored at 2-8°C, if closed and kept in their intact primary container; if not exposed to heat sources and/or pressure variations.

In case of damaging of the primary container organize the waste disposal.

AUXILIARY REAGENTS FOR QUALITY CONTROL

To grant the right performances use following kits (see the relative information for use (IFU)):

- ALDOLASE CALIBRATOR Iyo
- NORMAL CONTROL SERUM Iyo
- PATHOLOGICAL CONTROL SERUM Iyo

REF ALDCAL MB
REF OG15500
REF OG15600

The calibration curve has to be always repeated at each change of the lot of the Reagent and/or calibrator.

PREPARATION OF THE WORKING REAGENT

R1 - BUFFER: dilute the content of the bottle to 50 mL with distilled water; mix gently until dissolution.

R2 - NADH: dilute the content of the vial to 2 mL with distilled water; mix gently until dissolution.





ALDOLASE

R3 - GDH, TIM, LDH: suspension ready to use.

Let the reagent reach the room temperature before use.

Close immediately after handling.

The Reagents have to be used correctly, to avoid contamination.

An incompetent handling relieves us from any responsibility.

STABILITY OF THE WORKING REAGENT

R1 - BUFFER diluted is stable 4 weeks at 2-8°C, in the dark.

R2 - NADH diluted is stable 4 weeks at 2-8°C, in the dark.

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Normal laboratory equipment.

Micropipettes to deliver from 3 to 1000 µL.

Disposable micropipettes tips .

Transparent glass tubes for sample dilution.

Saline solution, distilled water, Controls.

Spectrophotometer or automatic analyzer for Clinical Chemistry.

SAMPLES

- Not haemolysed fresh serum.

- Not haemolysed fresh plasma (EDTA o heparina).

Samples collection in compliance with CLSI (NCCLS)

(see References 3).

The sample can be stored at 2-8°C, up to 6 days.

(see References 1).

WASTE DISPOSAL

Observe all federal, state and local environmental regulations for waste disposal.

ANALYTICAL PROCEDURE ON MANUAL SPECTROPHOTOMETER

- Wavelength: 340 nm (334-365 nm)
- Pathlength: 1 cm
- Reading: against air or distilled water
- Temperature: 37°C
- Method: kinetic
- Reaction: 20 minutes
- Sample/reagent: 1/12.5

Let reagents reach the working temperature before use.

Pipette in a test tube or cuvette so labelled:

R/B: Reagent Blank, ST: Calibrator, S: Sample

	R/B	ST	S
R1 - BUFFER diluted	2500 µL	2500 µL	2500 µL
Saline solution	200 µL	----	----
Calibrator	----	200 µL	----
Sample	----	----	200 µL
R2 - NADH diluted	50 µL	50 µL	50 µL
R3 - GDH, TIM, LDH	10 µL	10 µL	10 µL

Mix carefully and incubate for 5 minutes at 37°C.

Read the initial absorbance of the standard (Ast1) and

sample (As1) against the reagent blank (R/B1).

After 20 minutes of incubation at 37°C, read the absorbances of

calibrator (Ast2) and sample (As2) against the reagent blank

(R/B2). Calculate:

$\Delta R/B = R/B1 - R/B2$ for the reagent blank

$\Delta AST = Ast1 - Ast2$ for the calibrator

$\Delta AS = As1 - As2$ for the sample

ATTENTION!

The kit is tested for a manual spectrophotometer and for HITACHI, COBAS and MINDRAY systems. The applications on automatic analyzers could be completely different by what has been developed as manual determination.

REFERENCE VALUES (see References 1)

Normal Values Aldolase: 1.2 - 8.8 U/L

Since the normal values depend on age, sex, diet, geographic area and other factors, each laboratory should establish its own normal values for this procedure.

CALCULATION

Use this general formula to calculate the concentration:

$$\text{ALDOLASE (U/L, 37°C)} = \frac{(\Delta As - \Delta R/B)}{(\Delta Ast - \Delta R/B)} \times \text{calibrator conc.}$$

ANALYTICAL PERFORMANCES

(validate on MINDRAY BS300)

The performances of the Reagent **ALDOLASE** have been tested with a MINDRAY BS300 analyzer. The data, while representing the characteristics of the product, could be different for each laboratory and for different analyzers.

Method Limitations: are not know limitations.

Method Linearity: the test is linear up to 27 U/L.

For Aldolase concentrations higher than 27 U/L, it is recommended to dilute the sample 1:10 with saline solution, test again and multiply the result x 10.

Method Sensitivity (LoD): the sensitivity limit, that is the minimum concentration that can be distinguished by zero, is 0.9 U/L.

Interferences: see References 2.

Interference test criterion: recovery \pm 10% of initial value. No interference found on samples with:

- total bilirubin up to 40 mg/dL;
- haemoglobin up to 450 mg/dL,
- lipemia [Intralipid®] up to 2000 mg/dL;
- ascorbic acid up to 50 mg/dL.

Within-run Precision: determined on 20 replications of 2 samples.

The results obtained are following:

Sample	Mean (U/L) \pm 2s	CV %
Human 1	13.9 \pm 0.6	2.0
Human 2	18.5 \pm 1.9	5.0

Run-to-run Precision: determined for 5 days with 20 replications for each days, for two samples.

The results obtained are the following:

Sample	Mean (U/L) \pm 2s	CV %
Human 1	13.1 \pm 0.8	3.2
Human 2	19.3 \pm 1.2	3.1

Accuracy: a group of 20 sera has been tested using this procedure and using a similar reagent available on the market. The comparison gave these results:



ALDOLASE



Linear regression equation $y = 1.0137x + 0.153$
Correlation coefficient $r = 0.9931$ $n = 20$

REFERENCES

1. Textbook of Clinical Chemistry, Ed. by N.W. Tietz, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1999).
2. Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).
3. CLSI(NCCLS) C49-A/H56-A: Collection, Handling, Transport and Storage for Body Fluids. Quick Guide.
4. Beisenherz, G., et al., Z. Naturforsch., 8(b), 555 (1953).

EDMA (EDMS) CODE 11 01 01 90 00

