

Fructose-1,6-diphosphate aldolase

GDH - UV

Quantitative determination of Aldolase IVD

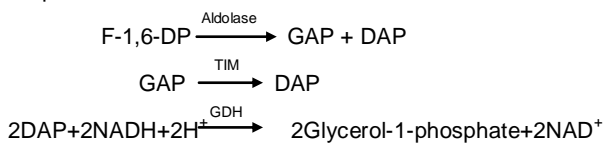
Store at 2-8°C

INTENDED USE

For the quantitative *in vitro* determination of Aldolase in serum or plasma.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Aldolase converts fructose-1,6-diphosphate (F-1,6-DP) to glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) and dihydroxyacetone phosphate (DAP). The addition of triosephosphate isomerase (TIM), glycerolphosphate dehydrogenase (GDH) and NADH converts the dihydroxyacetone phosphate to glycerol-1-phosphate. The rate of the aldolase reaction is measured by the decrease in absorbance at 340 nm as a consequence of the conversion of NADH to NAD⁺.



CLINICAL SIGNIFICANCE

Levels of Aldolase are elevated in cases of muscle or liver damage. Increased serum aldolase is also found with myocardial infarction and is used in the monitoring of patients with muscular dystrophy.

REAGENTS

R 1	Collidine buffer, pH 7.4	51 mmol/L
	Mono-iodoacetate	0.27 mmol/L
	F-1,6-DP	2.7 mmol/L
R 2	NADH	0.23 mmol/L
R3	GDH	≥ 326 mU/mL
	TIM	≥ 4.35 U/mL
	LDH	≥ 616 mU/mL
	Ammonium Sulphate	> 35 %

PREPARATION AND STABILITY

R1. Buffer/Substrate

Reconstitute one vial of Buffer/Substrate R1 with **20 mL** of distilled water. Stable for two weeks at +2 to +8°C.

R2. NADH

Reconstitute one vial of NADH R2 with **1 mL** of distilled water. Stable for 4 weeks at +2 to +8°C.

R3. GDH/TIM/LDH

Contents ready for use. Stable up to the expiry date specified when stored at +2 to +8°C.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 37° C (± 0.1°C)
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum, heparinized plasma or EDTA plasma.

PROCEDURE

1. Assay conditions:
 Wavelength: 340nm
 Cuvette: 1 cm light path
 Constant temperature 37°C
2. Adjust the instrument to zero with distilled water.
3. Pipette into a test tube.

	Sample blank	Calibrator	Sample
Sample (mL)	0.2	0.2	0.2
R1 (mL)	-	2.5	2.5
NaCl 9 g/L (mL)	-	-	-
R2 (mL)	-	0.05	0.05
R3 (mL)	-	0.01	0.01

4. Mix sample, R1, R2 and R3, and incubate at 37°C for 5 minutes.
5. Read absorbance A₁ against sample blank. Allow to stand at 37°C for exactly 20 minutes after first reading and then measure absorbance A₂ against blank.
6. If A₁ < 0.95, dilute 1+1 with 0.9% NaCl and reassay. Multiply the result by 2.

CALCULATIONS

To calculate the Aldolase activity use the following formula:

$$\frac{(A_1 - A_{sb}) - (A_2 - A_{cb})}{(A_1 - A_{sb}) - (A_2 - A_{cb})} \times \text{Conc. of calibrator}$$

$$(A_1 - A_{cb}) - (A_2 - A_{cb})$$

Where: A_{sb} = A sample blank, A_{cb} = A calibrator blank.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: Aldolase 2 levels control ref.1002222. Two levels of controls should be assayed at least once a day. Values obtained should fall within the specified range,

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

Serum: up to 7.6 U/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity: The method is linear up to a concentration of 106U/L. If the sample concentration exceeds this value, dilute the sample 1/5 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 5.

Sensitivity: The minimum detectable concentration of Aldolase with an acceptable level of precision was determined as 1.73 U/L.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	Mean (U/L)	SD	CV (%)	CV (%)
Mean (U/L)	6.36	19.1	6.36	19.1
SD	0.295	0.854	0.402	1.35
CV (%)	4.64	4.47	6.32	7.09

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results were the following:

Correlation coefficient (r): 0.9917.

Regression equation: y = 0.9815x + 0.183.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Haemolysis interferences with the test.

BIBLIOGRAPHY

1. Feissli, S., et al., (1966). *Klin. Wschr.* **44**: 390.

PACKAGING

Ref: 1001075 Cont. R1: 5 → 20 mL, R2: 2 → 1 mL, R3: 1 x 0.5 mL

Fructosa-1,6-difosfato aldolasa

GDH - UV

Determinación cuantitativa de Aldolasa IVD

Conservar a 2-8°C

USO PREVISTO

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de Aldolasa en suero y plasma.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La Aldolasa convierte la fructosa-1,6-difosfato (F-1,6-DP) en gliceraldehído-3-fosfato (GAP) y fosfato de dihidroxiacetona (FDA). La adición de triosefosfato isomerasa (TIM), glicerolfosfato dehidrogenasa (GDH) y NADH convierte el fosfato de dihidroxiacetona en glicerol-1-fosfato. La tasa de la reacción de aldolasa se mide por la disminución de la absorbancia a 340 nm como consecuencia de la conversión de NADH en NAD⁺.



SIGNIFICADO CLINICO

Los niveles de Aldolasa se ven aumentados en casos de daño hepático o muscular, y también en casos de infarto de miocardio. Se utiliza en el seguimiento de pacientes con distrofia muscular.

REACTIVOS

R 1	Tampón Colidina, pH 7.4	51 mmol/L
	Mono-iodo acetato	0.27 mmol/L
	F-1,6-DP	2.7 mmol/L
R 2	NADH	0.23 mmol/L
R3	GDH	≥ 326 mU/mL
	TIM	≥ 4.35 U/mL
	LDH	≥ 616 mU/mL
	Sulfato de amonio	> 35 %

PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

R1. Tampón/Substrato

Reconstituir un vial de Tampón/Substrato R1 con **20 mL** de agua destilada. Estable durante dos semanas a +2 a +8°C.

R2. NADH

Reconstituir un vial de NADH R2 con **1 mL** de agua destilada. Estable durante 4 semanas a +2 a +8°C.

R3. GDH/TIM/LDH

Listos para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva a +2 a +8°C.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o colorímetro para mediciones a 340 nm.
- Baño termostático a 37°C (± 0.1°C)
- Cubetas de paso de luz de 1,0 cm.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado o plasma EDTA.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones de la prueba:
Longitud de onda (principal/sub): 340 nm
Cubeta: paso de luz de 1 cm
Temperatura constante 37°C
- Ajustar el instrumento a cero con agua destilada.
- Pipetear en un tubo de ensayo.

	Blanco de muestra	Calibrador	Muestra
Muestra (mL)	0.2	0.2	0.2
R1 (mL)	-	2.5	2.5
NaCl 9 g/L (mL)	2.5	-	-
R2 (mL)	-	0.05	0.05
R3 (mL)	-	0.01	0.01

- Mezclar la muestra, R1, R2 y R3, e incubar a 37°C durante 5 minutos.
- Leer la absorbancia A₁. Dejar a 37°C durante 20 minutos después de la primera lectura y a continuación medir la absorbancia A₂.
- Si A₁ < 0.95, diluir 1+1 con 0.9% NaCl y volver a ensayar. Multiplicar el resultado obtenido por 2.

CÁLCULOS

Para calcular la actividad de la Aldolasa utilizar la siguiente fórmula :

$$(A_1 - A_{bm}) - (A_2 - A_{bc})$$

$$\frac{(A_1 - A_{bc}) - (A_2 - A_{bc})}{(A_1 - A_{bc}) - (A_2 - A_{bc})} \times \text{Conc. de calibrador}$$

Donde: A_{bm} = A blanco de muestra, A_{bc} = A blanco del calibrador,

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras control valorados: Aldolasa control de 2 niveles ref.1002222. Se debe realizar un ensayo a dos niveles al menos una vez al día. Los valores obtenidos deben estar dentro del rango especificado.

Si los valores de control están fuera del rango definido, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio deberá disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero: hasta 7.6 U/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Linealidad: El método es lineal hasta la concentración de 106U/l. Si la concentración de la muestra supera este valor, diluir el muestra 1/5 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado por 5.

Sensibilidad: La concentración mínima detectable de Aldolasa es de 1.73 U/L.

Precisión:

Media (U/L)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	6.36	19.1	6.36	19.1
SD	0.295	0.854	0.402	1.35
CV (%)	4.64	4.47	6.32	7.09

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,9917.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,9815 x + 0,183

Las características del método varían según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere con el ensayo.

BIBLIOGRAFÍA

- Feissli, S., et al., (1966). Klin. Wschr. **44**: 390.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001075 Cont. R1: 5 → 20 mL, R2: 2 → 1 mL, R3: 1 x 0.5 mL

Frutose-1,6-difosfato aldolase

GDH - UV

Determinação quantitativa de Aldolase IVD

Conservar a 2 - 8 °C

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Para a determinação quantitativa *in vitro* de Aldolase no soro e plasma.

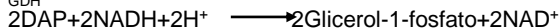
PRINCÍPIO DO MÉTODO

A Aldolase converte a frutose-1,6-difosfato (F-1,6-DP) em gliceraldeído-3-fosfato (GAP) e fosfato de dihidroxiacetona (FDA). A adição de triosefosfatoisomerase (TIM), glicerol fosfato dehidrogenase (GDH) e NADH converte o fosfato de dihidroxiacetona em glicerol-1-fosfato. A taxa da reação de aldolase é medida através da diminuição da absorvância a 340 nm como resultado da conversão de NADH em NAD⁺.

Aldolase



GDH



SIGNIFICADO CLÍNICO

Os níveis de Aldolase encontram-se aumentados em casos de danos hepáticos ou musculares, e também em casos de enfarte do miocárdio. É utilizado no seguimento de doentes com distrofia muscular.

REAGENTES

R 1	Tampão colidina, pH 7,4	51 mmol/L
	Mono-iodo acetato	0,27 mmol/L
	F-1,6-DP	2,7 mmol/L
R 2	NADH	0,23 mmol/L
R3	GDH	≥ 326 mU/mL
	TIM	≥ 4,35 U/mL
	LDH	≥ 616 mU/mL
	Sulfato de amónia	> 35 %

PREPARAÇÃO E ESTABILIDADE

R1. Tampão/Substrato

Reconstituir um frasco de Tampão/Substrato R1 com 20 mL de água destilada. Estável durante duas semanas a +2 a +8 °C.

R2. NADH

Reconstituir um frasco de NADH R2 com 1 mL de água destilada. Estável durante 4 semanas a +2 a +8 °C.

R3. GDH/TIM/LDH

Prontos para utilizar. Estável até à data de validade quando conservado a +2 a +8 °C.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou colorímetro para medições a 340 nm.
- Banho termostaticável a 37 °C (± 0,1 °C)
- Cuvetes de 1,0 cm caminho de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro, plasma heparinizado ou plasma EDTA.

PROCEDIMENTO

1. Condições do ensaio:
Comprimento de onda (principal/sub): 340 nm
Cuvete: caminho de luz de 1 cm
Temperatura constante: 37 °C
2. Ajustar o instrumento a zero com água destilada.

3. Pipetar num tubo de ensaio.

	Branco da amostra	Calibrador	Amostra
Amostra (mL)	0,2	0,2	0,2
R1 (mL)	-	2,5	2,5
NaCl 9 g/L (mL)	2,5	-	-
R2 (mL)	-	0,05	0,05
R3 (mL)	-	0,01	0,01

4. Misturar a amostra, R1, R2 e R3, e incubar a 37 °C durante 5 minutos.
5. Ler a absorvância A₁. Deixar a 37 °C durante 20 minutos após a primeira leitura e, em seguida, medir a absorvância A₂.
6. Se A₁ < 0,95, diluir 1+1 com NaCl 0,9% e voltar a testar. Multiplicar o resultado obtido por 2.

CÁLCULOS

Para calcular a atividade da Aldolase utilizar a fórmula seguinte:

$$\frac{(A1 \text{ amostra} - A2 \text{ amostra}) - (A) \text{ Branco da amostra}}{(A1 \text{ calibrador} - A2 \text{ calibrador}) - (A) \text{ Branco do calibrador}} \times \text{Conc. do calibrador}$$

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras de soros controlo avaliados: Aldolase controlo de 2 níveis ref.1002222. Deve-se realizar um ensaio a dois níveis pelo menos uma vez por dia. Os valores obtidos devem estar dentro do intervalo especificado.

Se os valores de controlo se encontrarem fora do intervalo definido, deve-se rever o instrumento, os reagentes e a técnica.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA¹

Soro: até 7,6 U/L

Estes valores são indicativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Linearidade: o método é linear até à concentração de 106U/L. Se a concentração da amostra for superior a este valor, diluir a amostra 1/5 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado por 5.

Sensibilidade: a concentração mínima de Aldolase detectável com um nível de precisão aceitável é de 1,73 U/L.

Precisão:

	Intra-série (n=20)		Inter-série(n=20)	
	Média (U/L)	SD	CV (%)	
Média (U/L)	6,36	19,1	6,36	19,1
SD	0,295	0,854	0,402	1,35
CV (%)	4,64	4,47	6,32	7,09

Exatidão: os reagentes SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r)²: 0,9917.

Equação da reta de regressão: y = 0,9815 x + 0,183

As características do método variam de acordo com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

A hemólise interfere com o ensaio.

BIBLIOGRAFIA

1. Feissli, S., et al., (1966). Klin. Wschr. **44**: 390.

APRESENTAÇÃO

Ref: 1001075

Cont.

R1: 5 → 20 mL,

R2: 2 → 1 mL,

R3: 1 x 0.5 mL