

LDH FS*

DGKC 1970

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de la lactato deshidrogenasa (LDH) en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase
1 4201 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL
1 4201 99 10 026	R1 5 x 80 mL + R2 1 x 100 mL
1 4201 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL
1 4201 99 10 704	R1 8 x 50 mL + R2 8 x 12,5 mL
1 4201 99 10 917	R1 8 x 60 mL + R2 8 x 15 mL
1 4201 99 90 305	R1 10 x 12 mL + R2 2 x 20 mL

Resumen [1,2]

La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima, constituida por cinco isoenzimas diferentes que catalizan la interconversión de L-lactato y piruvato. La LDH está presente en el citoplasma de todos los tejidos humanos con las concentraciones más elevadas en el hígado, el corazón y el músculo esquelético, y más bajas en los eritrocitos, el páncreas, riñón y estómago. Actividades de LDH incrementadas se encuentran en una variedad de condiciones patológicas tales como el infarto de miocardio, cáncer, las enfermedades del hígado, sangre o músculo. Sin embargo, debido a la falta de especificidad por un órgano, la determinación de sus isoenzimas u otras enzimas como la fosfatasa alcalina o ALT/AST es necesaria para el diagnóstico diferencial.

Método

Test optimizado de acuerdo a la Sociedad Alemana de Química Clínica (DGKC) [3].

Principio

Piruvato + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ Lactato + NAD⁺

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	Amortiguadora Fosfato	pH 7,5	64 mmol/L
	Piruvato		0,80 mmol/L
R2:	Solución tampón Good	pH 9,6	
	NADH		1,0 mmol/L

Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado de expiración, si se almacenan de 2 a 8 °C y se evita la contaminación. ¡No congelar los reactivos! El reactivo 2 debe protegerse de la luz!

Advertencias y Precauciones

- Los reactivos contienen azida de sodio (0.95 g/L) como conservante. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.
- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [7].
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- ¡Únicamente para el empleo profesional!

Manipulación de Desechos

Por favor remitase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Inicio con Sustrato

Los reactivos son listos para usar.

Inicio con Muestra

Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2
(p. ej. 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreactivo

Estabilidad: 5 días de 2 a 8 °C
8 horas de 15 a 25 °C

¡El monoreactivo debe protegerse de la luz!

Materiales requeridos pero no suministrados

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo General de laboratorio

Tipo de muestra

Suero, plasma heparinizado o con EDTA

Estabilidad [4]:

4 días de 20 a 25 °C
6 semanas de 4 a 8 °C

¡Desechar las muestras contaminadas!

Procedimiento del Ensayo

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda 340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Paso óptico 1 cm
Temperatura 25 °C/30 °C/37 °C
Método de medida Contra el aire

Inicio con Sustrato

Temperatura	25 °C/30 °C	37 °C
Muestra/Calibrador	20 µL	10 µL
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL
Mezclar, incubar durante aprox. 1 – 5 min., luego añadir:		
Reactivo 2	250 µL	250 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. e iniciar el cronómetro. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.		

Inicio con Muestra

Temperatura	25 °C/30 °C	37 °C
Muestra/Calibrador	20 µL	10 µL
Monoreactivo	1000 µL	1000 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. e iniciar el cronómetro. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.		

Cálculo

Con factor

De las lecturas de absorbancia calcular $\Delta A / \text{min.}$ y multiplicar por el factor correspondiente de la tabla de más abajo:

$\Delta A / \text{min.} \times \text{factor} = \text{actividad LDH [U/L]}$

Inicio con Sustrato	25 °C/30 °C	37 °C
340 nm	10080	20000
334 nm	10275	20390
365 nm	18675	37060

Inicio con Muestra	25 °C/30 °C	37 °C
340 nm	8095	16030
334 nm	8250	16345
365 nm	15000	29705

Con calibrador

$$\text{LDH [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min Muestra}}{\Delta A / \text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador [U/L]}$$

Factor de conversión

$$\text{LDH [U/L]} \times 0,0167 = \text{LDH [\mu kat/L]}$$

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda utilizar el calibrador DiaSys TruCal U. Este método es trazable al coeficiente de absorbancia molar. Para el control de calidad interno deben utilizarse los controles DiaSys TruLab N y P. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	N° de pedido	Presentación
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características

Rango de Medida

En equipos automatizados, el test sirve para determinar actividades de LDH hasta 1200 U/L.

En caso de un procedimiento manual, el test es apropiado para medir actividades de LDH que correspondan a un máximo de $\Delta A / \text{min}$ máximo de 0,15 a 340 y 334 nm o 0,08 a 365 nm.

Si estos valores son excedidos la muestra debe diluirse 1+10 con solución de NaCl (9 g/L) y los resultados multiplicados por 11.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con el ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL y lipemia hasta 2000 mg/dL de triglicéridos. La hemolisis interfiere porque el LDH es liberado por los eritrocitos. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [5].

Sensibilidad/Límite de Prueba

El límite más bajo de detección es de 5 U/L.

Precisión (a 25 °C)

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	142	5,50	3,86
Muestra 2	245	4,95	2,01
Muestra 3	497	8,39	1,69

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	144	3,09	2,13
Muestra 2	248	4,53	1,82
Muestra 3	492	6,23	1,26

Comparación de métodos

Una comparación entre DiaSys LDH FS (DGKC) (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 78 muestras dio los siguientes resultados:

$$y = 1.03 x + 2.13 \text{ U/L}; r = 0.999.$$

Rango de Referencia [6]



	25 °C	30 °C	37 °C	Unidad
Adultos	< 240	< 346	< 480	[U/L]
	< 4	< 5,77	< 8	[μkat/L]

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Thomas L. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft;1998.p.89–94.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company;1999.617–721.
3. Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie. Empfehlungen der deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC). Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. Z Klin Chem Klin Biochem 1972;10:182-92.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 36-7.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Fischbach F, Zawta B. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klin Lab 1992;38:555-61.
7. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9):1240–1243.

Fabricante

  DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania