

LDH FS*

IFCC

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

Información de pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase			
1 4211 99 10 021	R1	5 x 20 mL	R2	1 x 25 mL
1 4211 99 10 704	R1	8 x 50 mL +	R2	8 x 12,5 mL
1 4211 99 10 930	R1	4 x 20 mL +	R2	2 x 10 mL
1 4211 99 90 305	R1	10 x 12 mL +	R2	2 x 20 mL

Resumen [1,2]

La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima que está compuesta por cinco isoenzimas y que cataliza la transformación reversible del L-lactato en piruvato. La LDH se encuentra en el citoplasma de los tejidos humanos; las concentraciones más elevadas se observan en el hígado, el corazón y la musculatura esquelética, mientras que las concentraciones más bajas se dan en los eritrocitos, el páncreas, los riñones y el estómago. El aumento de las actividades de la LDH se produce en una serie de estados patológicos como el infarto de miocardio y las enfermedades hepáticas, musculares, hematológicas y malignas. La ausencia de especificidad de la LDH hace que sea necesario realizar una determinación de la isoenzima de la LDH o de otras enzimas, como la fosfatasa alcalina o ALAT/ASAT, con el fin de establecer un diagnóstico diferencial.

Método

Test UV optimizado según la IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*, Federación Internacional de Química Clínica) y la DGKC (*Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie*, Sociedad Alemana de Química Clínica).

Principio

L-lactato + NAD⁺ < LDH > piruvato + NADH + H⁺

Reactivos

Componentes y concentraciones

R1:	N-metil-D-glucamina	pH 9,40	420 mmol/L
	L-lactato		65 mmol/L
R2:	NAD ⁺		50 mmol/L

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 2 a 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. No se deben congelar los reactivos. Protéjase el reactivo 2 de la luz directa.

Advertencias y medidas de precaución

- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [8].
- 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!

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación de los reactivos

Procedimiento del sustrato

Los reactivos son listos para usar.

Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra

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

Estabilidad al almacenamiento:

12 horas	de	2 a 8 °C
2 horas	de	15 a 25 °C

¡Protéjase el reactivo de uso de la luz directa!

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L

Equipo usual de laboratorio

Muestras

Suero, plasma (heparina o EDTA)

Estabilidad [4]:

4 días de 20 a 25 °C

6 semanas de 4 a 8 °C

¡Desechar las muestras contaminadas!

Esquema de la prueba

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Paso óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Método de medida	Respecto blanco de reactivo

Procedimiento del sustrato

Muestra/Calibrador	Blanco	Muestra
Muestra/Calibrador	-	20 µL
Agua destilada	20 µL	-
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL
Mezclar, incubar aprox. 1 – 5 min. y, a continuación, añadir:		
Reactivo 2	250 µL	250 µL
Mezclar, leer la absorbancia al cabo de 1 min. y poner en marcha el cronómetro. Volver a leer la absorbancia al cabo de 1, 2 y 3 min.		

Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra

Muestra/Calibrador	Blanco	Muestra
Muestra/Calibrador	-	20 µL
Agua destilada	20 µL	-
Reactivo	1000 µL	1000 µL
Mezclar, leer la absorbancia al cabo de 1 min. y poner en marcha el cronómetro. Volver a leer la absorbancia al cabo de 1, 2 y 3 min.		

Cálculo

Con factor

A partir de las lecturas de absorbancia se calcula $\Delta A/\text{min}$. y se multiplica por el factor correspondiente según la siguiente tabla:

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

Procedimiento del sustrato

340 nm	10080
334 nm	10275
365 nm	18675

Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra

340 nm	8095
334 nm	8250
365 nm	15000

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 el calibrador DiaSys TruCal U. Este método ha sido estandarizado frente a la fórmula original de la IFCC. 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.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
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 $\Delta A/\text{min}$ de 0,15 a 340 nm y 334 nm o de hasta 0,08 a 365 nm.

Si se sobrepasa este valor, es preciso diluir las muestras con solución de NaCl (9 g/L) en una proporción 1+10 y multiplicar por 11 el resultado.

Especificidad/Interferencias

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

Sensibilidad del test/límite de prueba

El límite inferior de prueba son 5 U/L.

Precisión

En la serie n = 20	Valor medio (VM) [U/L]	Desviación estándar [U/L]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	178	2,00	1,12
Muestra 2	187	2,12	1,14
Muestra 3	566	2,27	0,40

De un día a otro n = 20	Valor medio (VM) [U/L]	Desviación estándar [U/L]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	170	1,62	0,95
Muestra 2	176	2,48	1,41
Muestra 3	566	3,61	0,64

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys LDH FS IFCC (y) con el reactivo de referencia de la IFCC (x) se obtuvieron los siguientes resultados con 51 muestras:

$$y = 0,949x + 8,451 \text{ U/L}; r = 0,998.$$

En la comparación con un test comercial se obtuvieron los siguientes resultados para 216 muestras:

$$y = 0,988x + 0,504 \text{ U/L}; r = 0,999.$$

Valores de referencia



	Femenino [U/L]	Masculino [U/L]	Femenino [μkat/L]	Masculino [μkat/L]
Adultos [6]	< 247	< 248	< 4,12	< 4,14
Niños [7]				
1 – 30 día(s)	145 – 765	125 – 735	2,42 – 12,8	2,09 – 12,3
31 días – 1 año	190 – 420	170 – 450	3,17 – 7,01	2,84 – 7,52
1 – 3 año(s)	165 – 395	155 – 345	2,76 – 6,60	2,59 – 5,76
4 – 6 años	135 – 345	155 – 345	2,25 – 5,76	2,59 – 5,76
7 – 9 años	140 – 280	145 – 300	2,34 – 4,68	2,42 – 5,01
10 – 12 años	120 – 260	120 – 325	2,00 – 4,34	2,00 – 5,43
13 – 15 años	100 – 275	120 – 290	1,67 – 4,59	2,00 – 4,84
16 – 18 años	105 – 230	105 – 235	1,75 – 3,84	1,75 – 3,92

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. 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. (German Society for Clinical Chemistry). Recommendation for the determination of the catalytic concentration of lactate dehydrogenase at 37 °C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:897-9.
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. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 3: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase. Clin Chem Lab Med 2002;40:643-48.
7. Soldin JS, Hicks JM. Pediatric reference ranges. Washington: AACC Press; 1995:95.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9):1240–1243

Fabricado por

  DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania