

Uso previsto

Para la determinación cinética cuantitativa *in vitro* de la actividad de lactato deshidrogenasa en suero, utilizando los analizadores Yumizen C230 y Yumizen C240.

Rx Only.

Importancia clínica

Los niveles elevados de LD se asocian con infarto de miocardio. Los niveles alcanzan su máximo, aproximadamente, 48 horas después del inicio del dolor y persisten durante unos diez días. El grado de elevación es valioso para evaluar la extensión del daño y desarrollar un pronóstico. También se observan elevaciones de LD en enfermedades hepáticas, anemia perniciosa, en algunos casos de enfermedades renales y en algunos casos de trauma del músculo esquelético.¹

Historia del método

En 1955, Wroblewski y Ladue² publicaron el primer método cinético UV para la determinación de la actividad de LDH en suero. Su método se basó en el ensayo clásico de Kubowitz y Ott³ (1943), utilizando la reacción de piruvato a lactato. En 1956, Wacker et al⁴ describieron un procedimiento que seguía una reacción de lactato a piruvato. La reacción de lactato a piruvato se convirtió en la reacción preferida⁵, aunque era la más lenta de las dos, debido a un rango lineal más amplio⁶ y sin necesidad de preincubación⁷. El presente método sigue la reacción directa y se ha optimizado para una mayor sensibilidad y linealidad, tal y como describen Gay et al.⁸

Principio



La lactato deshidrogenasa cataliza la oxidación de lactato a piruvato con reducción simultánea de NAD a NADH. La tasa de reducción de NAD se puede medir como un aumento en la absorbancia a 340 nm. Esta tasa es directamente proporcional a la actividad de LD en suero.

Composición del reactivo

Después de combinar R1 y R2, el reactivo contiene: NAD 5,8 mM, L-lactato 55 mM, disolución amortiguadora pH 8,95. Estabilizadores no reactivos y azida sódica (0,1%) como conservante.

Preparación de los reactivos

Los reactivos se suministran como líquidos listos para usar.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada si se almacenan según las instrucciones. Proteger de la luz. Evite la contaminación microbiana.

Precauciones

- Este reactivo está indicado exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
- Los reactivos contienen azida sódica (0,1%) como conservante. No ingerir. Evite el contacto con piel y ojos. La azida sódica puede reaccionar con tuberías de plomo y cobre, dando lugar a azidas metálicas explosivas. Vierta grandes cantidades de agua cuando deseche el reactivo.
- Todos las muestras y controles deben manipularse de conformidad con las buenas prácticas de laboratorio, tomando las precauciones adecuadas como se describe en el Manual del CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2.^a ed., 1988, Publicación del HHS n.º (CDC) 88-8395.

Extracción y almacenamiento de muestras

- Se recomienda suero no hemolizado. Los glóbulos rojos contienen grandes concentraciones de LD.⁵
- El suero debe eliminarse del coágulo de inmediato.
- Las muestras deben analizarse inmediatamente después de su extracción. La LD en suero se mantiene estable durante dos o tres días a temperatura ambiente.⁹
- No congele ni exponga el suero a altas temperaturas (37°C), ya que esto puede inactivar las isoenzimas LD termolábiles.¹⁰
- La extracción de muestras debe llevarse a cabo de conformidad con NCCLS M29-T2.¹¹ Ningún método puede ofrecer una garantía total de que las muestras de sangre humana no transmitan infecciones. Por tanto, todas las muestras deben considerarse potencialmente infecciosas.

Interferencias

- Ciertos fármacos y sustancias afectan a la actividad de la LD. Véase Young, et al.¹²
- Se ha determinado que la bilirrubina hasta un nivel de 20 mg/dL muestra una interferencia no significativa ($\leq 5\%$) en este ensayo.
- Se ha demostrado que la hemólisis interfiere significativamente con el ensayo a niveles bajos como 100 mg/dL.

Materiales suministrados

Reactivo disolución amortiguadora de lactato deshidrogenasa (R1)

Reactivo de coenzima de lactato deshidrogenasa (R2)

Materiales necesarios, pero no suministrados

- Analizador Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manual de instrucciones de Yumizen C230 / Yumizen C240
- Control químico Pointe, número de catálogo C7592-100

Parámetros de prueba

Test:	LDH	Química:	Lactato deshidrogenasa
Nº. de química	223	Imprimir nombre:	LDH
Tipo de reacción:	Cinética	Dirección de reacción:	Positivo
Onda Pri.:	340 nm	Onda Sec.	405 nm
Decimal.:	0	Muestra Tipo:	Suero
Tiempo de blanco:		Tiempo de reacción:	3 11
Unidad:	U/L	Tiempo de incubación:	3

	Vol. de muestra	Aspirado	Diluyente	Vol. de reactivo	Diluyente
Estándar;	11	uL	uL	uL 180	uL uL
Reducido;		uL	uL	uL 45	uL uL
Aumentado;		uL	uL	uL	

Rango de linealidad (Estándar):	0-1000	Límite de linealidad:	0.3
Rango de linealidad (Reducido):		Agotamiento del sustrato:	23000
Rango de linealidad (aumentado):		Abs. de blanco mezclado:	- 40000 40000
Abs. de blanco de R1:	- 40000 40000	Estabilidad en el equipo:	30 Día(s)
Respuesta de blanco	- 40000 40000	Límite de alarma del reactivo:	5
Química idéntica:			

Comprobación de prozona:			
Q1:	Q2:	Q3:	
Q4:	PC:	ABS:	

Usar resultado cualitativo:	
Rango:	Aviso:

Compensación de pendiente:			
Pendiente	Compensación	Unidad	
1	0	U/L	

Pretratamiento:			
Vol. de muestra de pretratamiento:	uL	Vol. de reactivo de pretratamiento:	uL

Rango de ref.:					
Tipo de muestra:	Género:	Rango de edad:	Rango de ref.:	Rango crítico:	Unidad:

Conjunto de reactivos Lactato deshidrogenasa Líquido Pointe

Parámetros de configuración de calibración

Quím:	LDH	Calibrador	Conc.	Pos.	N° lote
Config. calibración		Agua	0,0	W	
Modelo mat:	Factor K				
Factor:	3907000				
Réplicas:	2				
Límites de aceptación					
Tiempo Cal:	24 hr.				
Dif. Pendiente:	SD:				
Sensibilidad:	Repetibilidad:	* Definido por el usuario			
Coef. Deter:					
Auto Calib.					
<input type="checkbox"/> Tiempo cal					

Limitaciones

- El suero hemolizado producirá falsos niveles de LD elevados en suero.
- Las muestras que excedan el límite de linealidad (1000 U/L) deben diluirse con un volumen igual de solución salina y volver a analizarse. Multiplique los resultados por dos para compensar la dilución.

Calibración

El procedimiento se estandariza mediante la absorptividad milimolar del NADH tomada como 6,22 a 340 nm en las condiciones de ensayo descritas.

Control de calidad

La validez de la reacción debe supervisarse mediante el uso de muestras de control con valores de LD normales y anormales conocidos. Estos controles deben realizarse, al menos, en cada turno de trabajo en el que se realicen ensayos de LD. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia frecuencia de determinación de control. Los requisitos de control de calidad deben realizarse de conformidad con la normativa local, estatal y/o nacional o con los requisitos de acreditación.

Cálculo (Ejemplo)

Una Unidad internacional (U/L) se define como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto.

$$IU/L = \frac{(A_2 - A_1) \times 1.050 \times 1000}{1 \times 6,22 \times 0,050 \text{ mL}} = (A_2 - A_1) \times 3376$$

Donde:

- (A₂-A₁) = Cambio en absorbancia
- 1,050 = Volumen total de reacción en mL
- 1000 = Conversión de U/mL a U/L
- 1 = Paso de luz en cm
- 6.22 = Absorptividad milimolar de NADH
- 0,050 = Volumen de muestra en mL

Ejemplo: Si lectura inicial (A₁) = 0,450
Lectura final (A₂) = 0,480
(A₂-A₁) = 0,03
Por tanto, 0,03 x 3376 = 101 U/L

Nota: Para unidades SI (nkat/L), multiplique el resultado por 16,76.

Valores esperados⁵

Hombres 50-166 U/L (30°C) 80-285 U/L (37°C)

Mujeres 60-132 U/L (30°C) 103-227 U/L (37°C)

Debido a una amplia variedad de condiciones (dietéticas, geográficas, de edad, etc.) que se sabe que afectan a los rangos de referencia, se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

Rendimiento

- Ensayo: 0-1000 U/L. Las muestras que excedan las 1000 U/L deben diluirse con un volumen igual de solución salina, volver a analizarse y los resultados multiplicarse por dos.

- Correlación: Se realizó un estudio entre los analizadores de la serie Yumizen 200 y un analizador similar, usando este método, que dio como resultado un coeficiente de correlación de 0,999 con una ecuación de regresión de $y=1,013x + 4,1$.
- Precisión: Los estudios de precisión se realizaron, siguiendo una modificación de las pautas del documento NCCLS EP5-T2.¹²

Intraserial			Día a Día		
Media	S.D	% C.V	Media	D.S.	% C.V
131,6	4,4	3,4	114,4	2,3	2,0
331,5	6,4	1,9	331,3	7,0	2,1

- Sensibilidad: La sensibilidad del reactivo líquido de LD se investigó, leyendo el cambio de absorbancia a 340 nm para una muestra de agua desionizada y muestras de suero con actividades de LD conocidas. Se realizaron diez réplicas de cada muestra. Los resultados de esta investigación indicaron que, en el analizador utilizado, el reactivo líquido de LD mostró poca o ninguna desviación del reactivo en una muestra cero. Según las condiciones de reacción descritas, un cambio en la absorbancia de 0,0001 fue, aproximadamente, equivalente a 1 U/L de actividad de LD.

Referencias

- Tietz, N.W., editor, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Ed., W.B. Saunders Co., 391 (1987).
- Wroblewski, F., LaDue, J.S., Proc. Soc. Caduc. Biol. Med. 90:210 (1955).
- Kubowitz, F., Ott, P., Biochem. 314:94 (1943).
- Wacker, W.E.C., et al, N. Engl. J. Med. 255:449 (1956).
- Henry, R.J. et al, Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD) Harper & Row, pp. 819-831. (1974).
- Amador, E., et al, Clin. Chem. 9:391 (1963).
- Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289 (1977).
- Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B. Saunders Co., 657 (1976).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B. Saunders Co., 657,(1976).
- Kreutzer, H.H., et al, Clin. Chim. Acta 9:64 (1964).
- NCCLS Document M29-T2, 2nd Ed. (1991).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D (1975).
- NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Clave de símbolo

Usar antes de (AAAA-MM-DD)	Lote y código de lote
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limitación de temperatura
Consultar instrucciones de uso	Marca CE
Venta exclusiva con receta médica	
Representante autorizado en la Comunidad Europea	

12-L7572-100 Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeo Autorizado:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BÉLGICA
Tel.: (+32)2.732.59.54 Fax: (+32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Certificado para emplear reactivos

Los reactivos Pointe están certificados para ser fabricados de acuerdo con los parámetros especificados. Cualquier producto de reactivo Pointe que no cumpla con las especificaciones hasta la fecha de vencimiento indicada se reparará de inmediato sin cargo.