

Uso previsto

Para la determinación cinética cuantitativa *in vitro* de la actividad de lactato deshidrogenasa en suero utilizando, el analizador Yumizen C560. **Rx Only.**

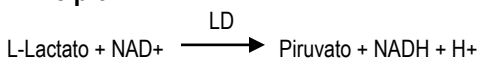
Importancia clínica

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. Los estudios del fabricante han demostrado que el reactivo es estable durante 30 días una vez colocado en el carrusel de reactivos refrigerado (2-10°C). Sin embargo, la estabilidad del reactivo puede variar según las condiciones de cada laboratorio.

Precauciones y peligros

1. Este reactivo está indicado exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
2. 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.
3. 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.

Peligros:

R1 y R2: Clasificación de peligro No es una sustancia o mezcla peligrosa.

Pictograma: No se requiere.

Palabra de advertencia: No se requiere.

Indicaciones de peligro: No es una sustancia o mezcla peligrosa.

Consejos de prudencia: No es una sustancia o mezcla peligrosa.

Véase la ficha de datos de seguridad de este producto (SDS-L7572) disponible llamando al (+1)-734-487-8300.

Extracción y almacenamiento de muestras

1. Se recomienda suero no hemolizado. Los glóbulos rojos contienen grandes concentraciones de LD.⁵
2. El suero debe eliminarse del coágulo de inmediato.
3. 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
4. No congele ni exponga el suero a altas temperaturas (37°C), ya que esto puede inactivar las isoenzimas LD termolábiles.¹⁰
5. 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

1. Ciertos fármacos y sustancias afectan a la actividad de la LD. Véase Young, et al.¹²
2. Se ha determinado que la bilirrubina hasta un nivel de 20 mg/dL muestra una interferencia no significativa ($\leq 5\%$) en este ensayo.
3. 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)

Conjunto de reactivos Lactato deshidrogenasa Pointe

Materiales necesarios, pero no suministrados

1. Analizador Yumizen C560
2. Manual de instrucciones de Yumizen C560
3. Control químico, número de catálogo C7592-100

Limitaciones

1. El suero hemolizado producirá falsos niveles de LD elevados en suero.
2. 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 absorbividad 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.

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

1. Rango del ensayo: 2-1000U/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.
2. Correlación: Se realizó un estudio entre el Yumizen C560 y un analizador similar, utilizando este método, que dio como resultado lo siguiente:

Método	LDH
N	80
LDH Media (U/L)	223,4
Rango (U/L)	88-866
Desviación estándar	153,8
Análisis de regresión	$y = 0,964x - 8,1$
Coefficiente de correlación	0,9995

3. Precisión: Los estudios de precisión se realizaron, siguiendo una modificación de las pautas del documento NCCLS EP5-T2.¹²

Muestra	Intraserial		
	BAJO	MEDIO	ALTO
N	20	20	20
Media	111,1	349,1	628,3
Desviación estándar	1,4	2,8	3,4
Coefficiente de variación (%)	1,3%	0,8%	0,5%

Muestra	Día a Día		
	BAJO	MEDIO	ALTO
N	40	40	40
Media	123,6	381,4	696,5
Desviación estándar	1,6	5,2	9,6
Coefficiente de variación (%)	1,3%	1,4%	1,4%

4. Sensibilidad: Límite de detección 2 SD (95% Con Int): 2 U/L

Referencias

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

PARÁMETROS QUÍMICOS

Quím:	LDH	N.º:	223	Tipo de muestra:	Suero
Química:	Lactato deshidrogenasa			Imprimir nombre:	LDH
Tipo de reacción:	Cinética			Dirección de reacción:	Positivo
Onda Pri:	340			Onda Sec:	412
Unidad:	U/L			Decimal	0
Tiempo de blanco:	0 0			Tiempo de reacción:	56 71
	Vol. de la muestra	Aspirado	Diluyente	Vol. del reactivo	Diluyente
Estándar:	7,3 uL	--- uL	--- uL	R1:	120 uL --- uL
Reducido:	--- uL	--- uL	--- uL	R2:	30 uL -- uL
Aumentado:	--- uL	--- uL	--- uL	R3:	--- uL -- uL
	<input type="checkbox"/> Muestra en blanco	<input checked="" type="checkbox"/> Reproceso automático		R4:	--- uL --- uL
Ajuste de pendiente/compensación					
Pendiente: 1		Compensación: 0			

Rango de linealidad (Estándar)	2	1000	Límite de linealidad:	0.3
Rango de linealidad (Reducido)	---	---	Agotamiento del sustrato:	25000
Rango de linealidad (aumentado)	---	---	Abs de blanco mixto:	
Abs de blanco de R1:	---	---	Hora de destape	
Respuesta de blanco:	---	---	Límite de alarma del reactivo:	
Química idéntica:			<input type="checkbox"/> Extensión lineal de enzimas	
<input type="checkbox"/> Comprobación de prozona		<input type="radio"/> Verificación de tasa	<input type="radio"/> Adición de antígeno	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

Conjunto de reactivos Lactato deshidrogenasa Pointe

PARÁMETROS DE CALIBRACIÓN

Definición de calibrador						
Calibrador:	*		N.º de lote:	*		
Fecha caduc:	*					
Carrusel						
Carrusel de muestras 1	*					
Carrusel de muestras 2						
Carrusel de muestras 3						
Reactivo/Calibración						
<u>Calibrador</u>	<u>Pos.</u>	<u>N.º Lote</u>	<u>Fecha caduc</u>	<u>Quím</u>	<u>Conc</u>	<u>Unidad</u>
Agua	A	*	*	LDH	0	U/L
Configuración de calibración						
Quím:	LDH					
<u>Configuración de la calibración</u>						
Modelo Mat:	K Factor					
Factor:	3505	Réplicas:	1			
<u>Límites de aceptación</u>						
Tiempo Cal:	24	Hora				
Dif. Pendiente:	---	SD:	---			
Sensibilidad:	---	Repetibilidad:	---			
Coef. Deter:	---					
<u>Auto Calib.</u>						
<input type="checkbox"/> Frasco cambiado	<input type="checkbox"/> Lote cambiado	<input type="checkbox"/> Tiempo Cal				

Se recomienda analizar diariamente dos niveles de material de control.

* Indica el parámetro definido por el usuario.

REF 14-L7572-200



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



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.

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



Clave de símbolo

- Usar antes de (AAAA-MM-DD) **LOT** Lote y código de lote
- REF** Número de catálogo Fabricante Limitación de temperatura
- Consultar instrucciones de uso **IVD** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

Rx Only: Venta exclusiva con receta médica