



LDH-P UNIM

AA

Método UV optimizado (SFBC) para la determinación de lactato deshidrogenasa (LDH) en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

La determinación de la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) tiene una gran variedad de aplicaciones clínicas. Por ser una enzima intracelular, su elevación es índice de daño tisular con la consecuente liberación de ésta a la circulación. El daño puede variar desde una simple anoxia con ligero daño celular y pérdida de citoplasma hasta necrosis celular severa generando diversos grados de elevación de la actividad enzimática.

En el infarto agudo de miocardio, la actividad de LDH total (junto con las CK y AST), constituye un elemento importante de diagnóstico. La misma comienza a elevarse 12-24 horas después de producido el infarto; alcanza un pico entre las 48-72 horas y permanece elevada hasta el séptimo o décimo día. También se registra un aumento de actividad de LDH total en pacientes con necrosis hepática (producida por agentes tóxicos o por infección aguda como la hepatitis viral) e incluso acompañando a necrosis tubular renal, pielonefritis, etc. En los tumores sanguíneos como leucemias y linfomas también se observan valores aumentados de la LDH.

En el líquido cefalorraquídeo (LCR) el valor normal es de aproximadamente el 10% de su valor en suero, aumentando marcadamente su valor en meningitis bacterianas. En las meningitis virales la LDH aumenta su valor solo en el 10% de los casos.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema de reacción:



Las concentraciones del ensayo están optimizadas de acuerdo a la Sociedad Francesa de Biología Clínica (SFBC).

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo NADH.

B. Reactivo B: solución de buffer Tris, pH 7,2 conteniendo piruvato y cloruro de sodio.

Concentraciones finales (según SFBC)

Tris.....	80 mM, pH 7,2
Piruvato	1,6 mmol/l
NADH	0,2 mmol/l
CiNa.....	200 mmol/l

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: agregar el volumen de Reactivo B indicado en el rótulo a un vial de Reactivo A. Tapar y agitar suavemente por inversión hasta disolución completa. Fechar.

Reactivo B: listo para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: estable 21 días en refrigerador (2-10°C) o 3 días a temperatura ambiente a partir del momento de su reconstitución.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo A reconstituido inferiores a 0,800 D.O. o superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener suero de la manera usual y separar del coágulo dentro de las dos horas de su obtención. También puede usarse plasma.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, debe usarse heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: las muestras con hemólisis visible o intensa pueden producir valores falsamente aumentados por lo que no deben ser usadas. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. La LDH es estable hasta 24 horas en refrigerador. No congelar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Material volumétrico adecuado.
- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

(Disminución de absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366)
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
- Tiempo de reacción: 3 minutos y 30 segundos.
- Los volúmenes de muestra y reactivo se pueden reducir proporcionalmente sin que varíen los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

A) 25°C

En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo A reconstituido	3 ml
---------------------------------	------

Preincubar unos minutos, luego agregar:

Muestra	100 ul
----------------	--------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 30 segundos. Leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 30-37°C

I- MACROTECNICA

Emplear 50 ul de Muestra, siguiendo el procedimiento indicado en A).

II- MICROTECNICA

Emplear 20 ul de muestra y 1,0 ml de Reactivo A reconstituido siguiendo el procedimiento indicado en A).

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$LDH (U/l) = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente de acuerdo a la temperatura de reacción seleccionada (30-37°C o 25°C) y a la técnica empleada (micro o macro técnica) como se indica en la siguiente tabla de factores:

Temp. L. onda	25°C	30-37°C	
		I	II
340 nm	4.921	9.683	8.095
334 nm	5.016	9.871	8.253
366 nm	9.118	17.941	15.000

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C	30°C (*)	37°C (*)
Valores (U/l)	120-240	160-320	230-460

(*) Calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$LDH (U/l) \times 0,017 = LDH (ukat/l)$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de lactato deshidrogenasa, con cada determinación.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

- Absorbancia inicial baja: cuando una vez agregado el suero, la primera lectura (tiempo 0) es inferior a 0,800 D.O. estando el sustrato (Reactivo A) en condiciones, indica una muestra con muy alta actividad de LDH (que consume NADH aún antes de esta lectura). En este caso, repetir la determinación con muestra diluida 1/10 con solución fisiológica y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.
- La humectación es causa de deterioro del Reactivo A.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	C.V.
438 U/l	$\pm 5,14 \text{ U/l}$	1,17 %
683 U/l	$\pm 7,99 \text{ U/l}$	1,17 %

b) Límite de detección: depende del espectrofotómetro empleado y de la longitud de onda. De acuerdo con la sensibilidad requerida, en espectrofotómetro a 340 nm (Hg 334 ó 366), con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, reproducibilidad $\pm 2 \text{ nm}$, luz espuria $\leq 0,5\%$ y semiancho de banda $\leq 8 \text{ nm}$, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001, el mínimo cambio de actividad detectable será de 5 U/l (a 340 nm y a 25°C).

c) Rango dinámico: el rango útil de lectura se extiende hasta 0,200 D.O. $\Delta A/\text{min}$ (a 340 nm y 25°C). Si la $\Delta A/\text{min}$ es superior a 0,200 D.O. (340-334 nm y 25°C) o 0,100 D.O. (366 nm y 25°C), repetir la determinación con muestra diluida 1/5 ó 1/10 con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

- 3 x 20 ml (Cód. 1521303).

BIBLIOGRAFIA

- Société Française de Biologie Clinique (SFBC) - Ann. Biol. Clin. 40:160, 1982.
- Sociedad Española de Química Clínica - Comité Científico, Comisión de Enzimas - Quím. Clin. 57-61, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Elaborado por:



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Nocivo



Uso diagnóstico "in vitro"



Corrosivo / Cáustico



Contenido suficiente para <n> ensayos



Irritante



Fecha de caducidad



Consultar instrucciones de uso



Límite de temperatura (conservar a)



Calibrador



No congelar



Control



Riesgo biológico



Control Positivo



Volumen después de la reconstitución



Control Negativo



Contenido



Número de catálogo



Número de lote

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 2114/97



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina