



LDH-L

Para la determinación de lactato deshidrogenasa en suero, plasma y líquido cefalorraquídeo

SIGNIFICACION CLINICA

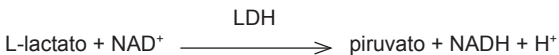
La determinación de la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) tiene una gran variedad de aplicaciones clínicas. Por ser una enzima intracelular, su elevación es índice de daño tisular con la consecuente liberación de ésta a la circulación. El daño puede variar desde una simple anoxia con ligero daño 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

El método se basa en el siguiente esquema de reacción:



La velocidad de formación de NADH es directamente proporcional a la actividad catalítica de la LDH y se determina midiendo el aumento de la absorbancia a 340 nm.

Las concentraciones del ensayo están optimizadas de acuerdo a los procedimientos de referencia para la medición de la actividad catalítica de las enzimas a 37°C descriptos por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC)

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de metilglucamina (MEG) 400 mM y lactato 61 mM; pH 9,4 a 37°C.

B. Reactivo B: solución conteniendo NAD 61 mM.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Solución fisiológica (NaCl 9 g/l).

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

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

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados ni fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones. Proteger de la luz directa.

MUESTRA

Suero, plasma o LCR

a) Recolección: obtener el suero de la manera habitual, libre de hemólisis. También pueden usarse plasma o LCR. El plasma debe estar libre de hemólisis y de células ya que las plaquetas poseen elevadas concentraciones de LDH. El plasma recogido en tubos primarios de acuerdo a las instrucciones del fabricante puede contener células en suspensión, generando resultados falsamente aumentados. Se recomienda transferir el plasma a un tubo secundario y centrifugar.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de heparina como anticoagulante. También puede utilizarse EDTA o citrato. En caso de utilizar EDTA, se ha demostrado que puede disminuir la actividad de la LDH hasta un 10%.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por triglicéridos hasta 1400 mg/dl, bilirrubina hasta 30 mg/dl. La hemoglobina interfiere significativamente en todo su rango de concentraciones por lo que se recomienda usar muestras libres de hemólisis.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: separar el suero o el plasma del coágulo o de las células y efectuar el test inmediatamente. En caso de no procesarse en el momento, puede conservarse 7 días a 20-25°C, 4 días a 2-10°C o 6 semanas a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipetas para medir los volúmenes indicados
- Analizador automático

PROCEDIMIENTO

(Analizador automático)

A continuación se detalla un procedimiento general para **LDH-L** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica en un analizador en particular, siga las instrucciones de trabajo del mismo. En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Muestra o Calibrador	4 ul
-----------------------------	------

Reactivo A	100 ul
-------------------	--------

Incubación durante 300 segundos a 37°C

Reactivo B	20 ul
-------------------	-------

Incubación durante 120 segundos a 37°C.

$[LDH] = (\Delta A/min) \times \text{factor}$; $\epsilon_{NAD/NADH} = 6230 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Los analizadores Wiener lab. calculan automáticamente la actividad de LDH de cada muestra.

PERFORMANCE

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

Nivel	D.S.	C.V.
150 U/l	$\pm 2,69 \text{ U/l}$	1,8 %
250 U/l	$\pm 3,75 \text{ U/l}$	1,5 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 1000 U/l. Para valores superiores, diluir la muestra 1+4 partes con solución fisiológica (NaCl 9 g/l), repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

c) Límite de detección: 4 U/l.

d) Límite de cuantificación: 20 U/l.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consultar las adaptaciones correspondientes a los analizadores de la línea Wiener lab para el método LDH-L. Para la calibración debe utilizarse Calibrador A plus de Wiener lab.

PRESENTACION

120 ml: - 1 x 100 ml Reactivo A
- 1 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1999726)

120 ml: - 2 x 50 ml Reactivo A
- 2 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1009213)

150 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A
- 2 x 15 ml Reactivo B

(Cód. 1009364)

150 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A
- 2 x 15 ml Reactivo B

(Cód. 1009625)

BIBLIOGRAFIA

- Commutable Calibrador with Value Assigned by the IFCC Reference Procedure. Clinical Chemistry 54/8:1349-1355, 2008.
- IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C. Clin. Chem. Lab. Med. 40/6:643-648, 2002.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N° 16, 2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N° 19, 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N° 34, 2004.
- J. Vázquez, M. Adducci, D. Monzón, K. Iserson - Journal of Emergency Medicine, 37/1:93-97, 2009.

CALIBRACION

El método **LDH-L** fue estandarizado frente a la fórmula original del IFCC usada como referencia.

El **Calibrador A plus** es procesado de la misma manera que las muestras y a partir de él se calcula el factor correspondiente.

Se recomienda usar calibración a dos puntos después de cambiar lote de reactivo y cuando el control de calidad lo requiera.

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.

VALORES DE REFERENCIA

Adultos 135 -240 U/l

Niños (2 - 15 años) 120 -300 U/l

Recién nacidos (4 a 20 días) 240 - 600 U/l

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia, teniendo en cuenta sexo, edad, hábitos alimenticios, medicación y otros factores de su población.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$LDH (U/l) \times 0,0167 = LDH (ukat/l)$

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.


Las muestras de plasma deben ser centrifugadas previamente a realizar el ensayo.

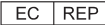
Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.


Se recomienda utilizar **Standatrol S-E 2 niveles** de Wiener lab, como material de control de calidad, ya que con controles de otras marcas comerciales pueden obtenerse valores diferentes al rango especificado, dado que los mismos dependen del método o sistema utilizado.


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"


 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)


 No congelar

 Riesgo biológico


 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo


 Corrosivo / Caústico


 Irritante


 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 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.
PM-1102-70



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina