



# LDH-L

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

## SIGNIFICACION CLINICA

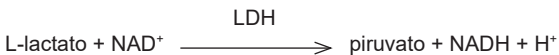
La determinación de la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) tiene una gran variedad de aplicaciones clínicas. Por ser una enzima intracelular, su elevación es índice de daño tisular con la consecuente liberación de ésta a la circulación. El daño puede variar desde una simple anoxia con ligero daño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

<b>Muestra o Calibrador</b>	4 ul
-----------------------------	------

<b>Reactivo A</b>	100 ul
-------------------	--------

Incubación durante 300 segundos a 37°C

<b>Reactivo B</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.

Nivel	D.S.	C.V.
150 U/l	± 2,69 U/l	1,8 %
250 U/l	± 3,75 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

84 ml: - 2 x 35 ml Reactivo A

- 2 x 7 ml Reactivo B

(Cód. 1008121)\*

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)

150 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A

- 2 x 15 ml Reactivo B

(Cód. 1009933)

## BIBLIOGRAFIA

- Conmutable 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", AACCC Press, 4<sup>th</sup> 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.

## PERFORMANCE

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



# LDH-L

Para a determinação de lactato desidrogenase em soro, plasma e líquido cefalorraquidiano

## SIGNIFICADO CLÍNICO

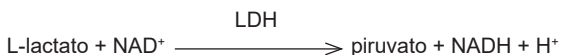
A determinação da atividade do lactato desidrogenase (LDH) tem uma grande variedade de aplicações clínicas. Visto que é uma enzima intracelular, sua elevação é indício de dano tissular com a conseqüente liberação da enzima à circulação. O dano pode variar desde uma simples anoxia com ligeiro dano celular e perda de citoplasma até necrose celular severa gerando diversos graus de elevação da atividade enzimática.

No enfarte agudo do miocárdio, a atividade de LDH total (junto com a de CK e AST) constitui um elemento importante de diagnóstico. A atividade começa a aumentar 12 a 24 horas após o enfarte, alcança um pico entre as 48-72 horas e permanece elevada até o sétimo ou décimo dia. Também se registra um aumento da atividade de LDH total em pacientes com necrose hepática (produzida por agentes tóxicos ou por infecções agudas como a hepatite viral) e também acompanhando necrose tubular renal, pielonefrite, etc. Nos tumores sanguíneo como leucemias e linfomas também são observados valores aumentados de LDH.

No líquido cefalorraquidiano (LCR) o valor normal é aproximadamente 10% do seu valor em soro, aumentado marcadamente seu valor em meningites bacterianas. Nas meningites virais a LDH aumenta seu valor só no 10% dos casos.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O método está baseado no seguinte esquema de reação:



A velocidade de formação de NADH é diretamente proporcional à atividade catalítica da LDH e é determinada medindo o aumento da absorbância a 340 nm.

As concentrações do ensaio estão otimizadas de acordo com os procedimentos de referência para a medição da atividade catalítica das enzimas a 37°C descritos pela Federação Internacional de Química Clínica (IFCC).

## REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** solução de metilglucamina (MEG) 400 mM e lactato 61 mM; pH 9,4 a 37°C.

**B. Reagente B:** solução contendo NAD 61 mM.

## REAGENTES NÃO FORNECIDOS

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

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagentes Providos:** prontos para uso.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos:** são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Uma vez abertos, não devem permanecer destampados nem fora da geladeira por períodos prolongados. Evitar contaminações. Proteger da luz direta.

## AMOSTRA

Soro, plasma ou LCR

**a) Coleta:** obter o soro da maneira habitual, livre de hemólise. Também pode ser usado plasma ou LCR. O plasma deve estar livre de hemólise e células posto que as plaquetas contêm altas concentrações de LDH. O plasma coletado em tubos primários segundo as instruções do fabricante, podem conter células em suspensão, gerando resultados falsamente aumentados. É recomendável transferir o plasma a um tubo secundário e centrifugar.

**b) Aditivos:** se a amostra a ser utilizada for plasma se recomenda o uso de heparina como anticoagulante. Também pode ser utilizado EDTA ou citrato. Há estudos que demonstram uma queda de até 10% na atividade de LDH, quando a amostra utilizada for plasma.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** não são observadas interferências por triglicérides até 1400 mg/dl, bilirrubina até 30 mg/dl. A hemoglobina interfere significativamente em toda a faixa de concentrações, portanto é recomendável utilizar amostras livres de hemólise.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** separar o soro e o plasma do coágulo e das células e realizar a prova imediatamente. Caso a amostra não seja processada na hora, pode ser conservada 7 dias a 20-25°C, 4 dias a 2-10°C ou 6 semanas a -20°C.

## MATERIAL REQUERIDO (não fornecido)

- Micropipetas para medir os volumes indicados.
- Analisador automático.

## PROCEDIMENTO

(Analisador automático)

A seguir, é detalhado um procedimento geral para **LDH-L** em um analisador automático. Quando for utilizada a técnica para um analisador em particular, as instruções de trabalho do mesmo devem ser seguidas. Em uma cubeta mantida à temperatura escolhida, colocar:

<b>Amostra ou Calibrador</b>	4 ul
------------------------------	------

<b>Reagente A</b>	100 ul
-------------------	--------

Incubação durante 300 segundos a 37°C.

<b>Reagente B</b>	20 ul
-------------------	-------

Incubação durante 120 segundos a 37°C.

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

Os analisadores Wiener lab. calculam automaticamente a atividade da LDH de cada amostra.

Nível	D.P.	C.V.
150 U/l	± 2,69 U/l	1,8 %
250 U/l	± 3,75 U/l	1,5 %

**b) Linearidade:** a reação é linear até 1000 U/l. Para valores superiores, diluir a amostra 1+4 partes com solução fisiológica (NaCl 9 g/l), repetir a determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

**c) Limite de detecção:** 4 U/l.

**d) Limite de quantificação:** 20 U/l.

## PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar as programações correspondentes aos analisadores Wiener lab para o método LDH-L. Para a calibração, deve ser utilizado **Calibrador A plus** da Wiener lab.

## APRESENTAÇÃO

84 ml: - 2 x 35 ml Reagente A

- 2 x 7 ml Reagente B

(Cód. 1008121)\*

120 ml: - 1 x 100 ml Reagente A

- 1 x 20 ml Reagente B

(Cód. 1999726)

120 ml: - 2 x 50 ml Reagente A

- 2 x 10 ml Reagente B

(Cód. 1009213)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagente A

- 2 x 15 ml Reagente B

(Cód. 1009364)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagente A

- 2 x 15 ml Reagente B

(Cód. 1009625)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagente A

- 2 x 15 ml Reagente B

(Cód. 1009933)

## REFERÊNCIAS

- Conmutable 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", AAC Press, 4<sup>th</sup> 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.

## CALIBRAÇÃO

O método LDH-L foi padronizado com a fórmula original de IFCC utilizada como referência.

O **Calibrador A plus** é processado da mesma maneira que as amostras. A partir dele é calculado o fator correspondente. Recomenda-se utilizar calibração a dois pontos quando mudar o lote e quando seja requerido pelo controle de qualidade.

## MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com atividades conhecidas de lactato desidrogenase, com cada determinação.

## VALORES DE REFERÊNCIA

Adultos: 135 - 240 U/l

Crianças (2 - 15 anos): 120 - 300 U/l

Recém nascidos (4 - 20 dias): 240 - 600 U/l

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência, levando em consideração sexo, idade, hábitos alimentares, medicação e outros fatores próprios da população.

## CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

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

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. As amostras de plasma devem ser centrifugadas antes do teste. Para preservar a integridade dos reagentes, todo tipo de contaminação deve ser evitado, utilizando para a medição somente micropipetas perfeitamente limpas e secas. Recomenda-se utilizar **Standatrol S-E 2 níveis** da Wiener lab. como material de controle de qualidade, visto que com outros controles comerciais podem ser obtidos valores diferentes à faixa estabelecida, porque os mesmos são dependentes do método.

## DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** processando simultaneamente replicações de uma mesma amostra, obtiveram-se os seguintes dados:



# LDH-L

For the determination of lactate dehydrogenase in serum, plasma and cerebrospinal fluid

## SUMMARY

The determination of lactate dehydrogenase activity has a wide variety of clinical uses. As an intracellular enzyme, its increase indicates tissue damage with its consequent release to the blood stream. The damage can range from simple anoxia with small cell damage and cytoplasm loss to severe cellular necrosis causing various degrees of enzyme activity increase. In Acute Myocardial Infarction, the total LDH activity (along with that of CK and AST) constitutes an important diagnostic element. The activity starts increasing 12-24 hours after the infarction and reaches a peak between 48-72 hours, remaining high up to the seventh or tenth day.

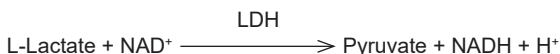
On the other hand, an LDH activity increase is observed in patients with hepatic necrosis (produced by toxic agents or acute infections such as viral hepatitis) even accompanying renal tubular necrosis, pyelonephritis, etc.

In blood tumors like leukemia and lymphoma increased levels of LDH are also observed.

In the cerebrospinal fluid (CSF) normal value is approximately 10% of its value in serum, markedly increasing its value in bacterial meningitis. In viral meningitis, LDH increases its value only in 10% of cases.

## PRINCIPLE

The method is based on the following reaction scheme:



The rate of NADH formation is directly proportional to the LDH catalytic activity and is determined by measuring the increased absorbance at 340 nm.

Test concentrations are optimized according to the reference procedures for measuring the enzyme catalytic activities at 37°C described by the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).

## PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A:** 400 mM methylglucamine (MEG) and 61 mM lactate solution; pH 9.4 at 37°C.

**B. Reagent B:** solution containing 61 mM NAD.

## NON-PROVIDED REAGENTS

- Wiener lab.'s **Calibrador A plus**
- Saline solution (9 g/l NaCl)

## INSTRUCTIONS FOR USE

**Reagent A and B:** ready to use.

## WARNING

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

All reagents and samples should be discarded according to current regulations.

## STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagents:** stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Once opened, they should not remain uncapped or outside the refrigerator for extended periods of time. Avoid contamination. Protect from direct light.

## SAMPLE

Serum, plasma or CSF

**a) Collection:** obtain serum in the usual way, free from hemolysis. It can also be use plasma or CSF. The plasma must be free from hemolysis and cells since platelets have high concentrations of LDH. The plasma collected in primary tubes, according to the manufacturer's instructions, may contain cells in suspension, producing falsely increased results. Transferring the plasma into a secondary tube and centrifuging is recommended.

**b) Additives:** when using plasma, heparin is recommended as anticoagulant. EDTA or citrate could also be used as anticoagulant. When EDTA is used, it has shown to decrease the activity of LDH up to 10%.

**c) Known interfering substances:** no interference has been observed with triglycerides up to 1400 mg/dl and bilirubin up to 30 mg/dl. Hemoglobin significantly interferes in its full range of concentrations, thus it is recommended to use samples free from hemolysis.

Refer to Young, D.S. in references for drugs' effect on the present method.

**d) Stability and storage instructions:** separate serum or plasma from clot or cells and perform the test immediately. In case the test cannot be performed immediately, sample could be stored for up to 7 days at 20-25°C, for up to 4 days at 2-10°C or for up to 6 weeks at -20°C.

## REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Micropipettes for measuring the stated volumes
- Automated analyzer

## PROCEDURE

(Automated analyzer)

Below is a general procedure for **LDH-L** in automated analyzers. When implementing the technique in a particular analyzer follow its work instructions. In a cuvette kept at the selected temperature, place:

<b>Sample or Calibrator</b>	4 ul
<b>Reagent A</b>	100 ul
Incubate for 300 seconds at 37°C	
<b>Reagent B</b>	20 ul
Incubate for 120 seconds at 37°C. [LDH] = ( $\Delta A/min$ ) x factor; $\epsilon_{NAD/NADH} = 6230 M^{-1} cm^{-1}$ Wiener lab analyzers calculate automatically the LDH activity of each sample.	

## PARAMETERS FOR AUTOMATED ANALYZERS

For programming instructions, refer to the corresponding applications for LDH-L method of the Wiener lab automated analyzers. For calibration use Wiener lab's **Calibrador A plus**.

### WIENER LAB PROVIDES

84 ml: - 2 x 35 ml Reagent A

- 2 x 7 ml Reagent B

(Cat. Nº 1008121)\*

120 ml: - 1 x 100 ml Reagent A

- 1 x 20 ml Reagent B

(Cat. Nº 1999726)

120 ml: - 2 x 50 ml Reagent A

- 2 x 10 ml Reagent B

(Cat. Nº 1009213)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagent A

- 2 x 15 ml Reagent B

(Cat. Nº 1009364)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagent A

- 2 x 15 ml Reagent B

(Cat. Nº 1009625)

150 ml: - 2 x 60 ml Reagent A

- 2 x 15 ml Reagent B

(Cat. Nº 1009933)

### REFERENCES

- 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 Nº 16, 2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 Nº 19, 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 Nº 34, 2004.
- J. Vázquez, M. Adducci, D. Monzón, K. Iserson - Journal of Emergency Medicine, 37/1:93-97, 2009.

### CALIBRATION

LDH-L method was standardized against the IFCC's original formula used as reference. Calibrador A plus should be processed in the same way as samples and the corresponding factor is calculated based on it.

We recommend using a two-point calibration after changing reagent lot and when required by the quality control.

### QUALITY CONTROL METHOD

Process 2 levels of quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known activities of lactate dehydrogenase for each determination.

### REFERENCE VALUES

Adults: 135 -240 U/l

Children (2 -15 years old): 120 -300 U/l

Newborns (4-20 days): 240 - 600 U/l

It is recommended that each laboratory establish its own reference values, taking into account sex, age, eating habits, medications and other population factors.

### SI SYSTEM UNITS CONVERSION

LDH (U/L) x 0.0167 = LDH (ukat/l)

### PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

Plasma samples should be centrifuged before testing.

To preserve reagents' integrity avoid all forms of contamination, using only perfectly clean and dry micropipettes for measurement. We recommend Wiener lab.'s **Standatrol S-E 2 niveles** as quality control material, since different values than the specified range may be obtained with controls from other trademarks, because they depend on the method or system used.

### PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** simultaneously processing replicates of the same sample, the following values were obtained:

Level	S.D	C.V.
150 U/l	± 2.69 U/l	1.8 %
250 U/l	± 3.75 U/l	1.5 %

**b) Linearity:** the reaction is linear up to 1000 U/l. For higher values dilute sample 1+4 parts with saline (9 g/L NaCl), repeat the assay and multiply the result by the dilution factor.

**c) Detection limit:** 4 U/l

**d) Quantification limit:** 20 U/l



# LDH-L

Nr kat. 1999726 Nr kat. 1009625  
Nr kat. 1009213 Nr kat. 1009933  
Nr kat. 1009364 Nr kat. 1008121

## Do ilościowego oznaczenia dehydrogenazy mleczanowej w surowicy, osoczu i płynie mózgowo-rdzeniowym

### WSTĘP

Oznaczenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy ma szerokie zastosowanie kliniczne. W przypadku ostrego zawału mięśnia sercowego całkowita aktywność LDH (łącznie z CK oraz AST) stanowi istotne narzędzie diagnostyczne. Wzrost aktywności występuje w ciągu 12-24 godzin po zawale, osiągając szczytowy poziom między 48-72 godziną i utrzymując się do 7-10 dnia. Z drugiej strony wzrost całkowitej aktywności LDH występuje u pacjentów z martwicą wątroby (czynniki toksyczne lub ostre infekcje-wirusowe zapalenie wątroby) a także przy martwicy cewek nerkowych lub odmiedniczkowego zapalenia nerek, itp.

W chorobach krwi takich jak białaczka i chłoniaki obserwuje się podwyższone poziomy LDH.

W płynie mózgowo-rdzeniowym zakres wartości referencyjnych to 10% wartości dla surowicy, ze znacznie podwyższonymi poziomami w bakteryjnym zapaleniu opon mózgowych. W wirusowym zapaleniu opon mózgowych poziom LDH jest podwyższony tylko w 10 % przypadków.

### ZASADA DZIAŁANIA

LDH

L-mleczan + NAD<sup>+</sup> → Pirogronian + NADH + H<sup>+</sup>

LDH katalizuje utlenianie mleczanu do pirogronianu w obecności NAD. Enzymatyczna aktywność LDH jest proporcjonalna do wielkości produkcji NADH (zredukowanego NAD).

Ilość powstałego NADH jest mierzona przez pomiar wzrostu absorbancji przy długości fali 340 nm.

Otrzymywane w tej metodzie wartości zostały skorygowane wg procedury referencyjnej, opisaną przez IFCC, dla pomiaru aktywności enzymatycznej w 37°C.

### DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** roztwór Metyloglukaminy (MEG) 400 mM, roztwór mleczanu 61 mM (pH 9,4 w 37°C).

**B. Odczynnik B:** roztwór zawierający NAD 61 mM.

### NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Sól fizjologiczna (0,9%).

- **Calibrador A plus** Wiener lab.

### INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynniki **A** i **B**: są gotowe do użycia.

### OSTRZEŻENIA

Odczynniki tylko do diagnostyki "in vitro".

Przy pracy z odczynnikami stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych procedur w laboratoriach klinicznych. Odpady należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami.

### TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

**Dostarczane odczynniki:** są trwałe przechowywane w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

Po otwarciu, nie należy pozostawiać, nie zamknięte, poza lodówką, przez dłuższy okres czasu. Unikać zanieczyszczenia odczynnika. Chronić przed bezpośrednim działaniem światła słonecznego.

### MATERIAŁ

Surowica, osocze lub CSF

**a) Pobranie:** pobrać krew w klasyczny sposób, surowica nie może wykazywać śladów hemolizy, podobnie jak osocze. Osocze nie może zawierać również frakcji komórek a szczególnie płytek, ze względu na ich wysoką zawartość LDH. CSF także można stosować do oznaczeń LDH. Osocze pobierane do próbek pierwotnych, zgodnie z instrukcją producenta, może zawierać zawieszone komórki, które mogą być przyczyną wyników fałszywie podwyższonych. Zaleca się przenoszenie osocza do próbek wtórnych i odwirowywanie.

**b) Substancje dodatkowe:** dla osocza, heparyna jest zalecana jako antykoagulant. Dopuszczalne jest użycie cytrynianu i EDTA jako antykoagulantu. EDTA wykazuje działanie obniżające aktywność LDH aż do 10%.

**c) Znane interakcje:** bilirubina do 30 mg/dl, triglicerydy do poziomu 1400.0 mg/dl nie mają wpływu na wynik badania. Hemoglobina znacząco interferuje w oznaczenie, w całym zakresie wartości stężeń. Należy stosować próbki bez śladów hemolizy.

Wpływ leków: patrz dane źródłowe Young D.S, pozycja w j. polskim.

**d) Trwałość i warunki przechowywania:** oznaczenie w surowicy, osoczu lub CSF należy wykonać bezpośrednio po pobraniu. Surowicę lub osocze należy uprzednio oddzielić od skrzepu lub Komórek. Jeśli nie jest to możliwe próbki surowicy i osocza można przechowywać w temperaturze 20-25°C do 7 dni, do 4 dni 2-10°C lub do 6 tygodni po zamrożeniu do -20°C.

### WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (nie dostarczone)

- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości.

- Automatyczny analizator.

## PROCEDURA

(analyzer automatyczny)

Poniżej zamieszczono procedurę dla **LDH-L** na analyzer automatyczny. Wprowadzając aplikację na konkretny aparat należy przestrzegać jego instrukcji obsługi. Do kuwety inkubowanej we właściwej temperaturze należy dodać:

**Próbkę lub kalibrator** 4  $\mu$ l

**Odczynnik A** 100  $\mu$ l

Inkubować przez 300 sekund w 37°C

**Odczynnik B** 20  $\mu$ l

Inkubować przez 120 sekund w 37°C.

[LDH] = ( $\Delta A$ /min) x faktor,  $\epsilon_{\text{NAD}^+/\text{NADH}} = 6230 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$

Analizatory Wiener lab. obliczają automatycznie aktywność LDH w każdej próbce.

## KALIBRACJA

**Calibrador A plus** należy traktować tak jak próbkę badaną, na podstawie jego oznaczenia współczynnik kalibracji jest wyznaczany.

Zaleca się wykonanie dwupunktowej kalibracji przy zmianie serii odczynnika lub ze wskazań kontroli jakości.

## KONTROLA JAKOŚCI

Zaleca się stosowanie naszej surowicy kontrolnej (**Standatrol S-E 2 niveles**) zawierającej mianowane wartości LDH dla tej metody.

## ZAKRES WARTOŚCI REFERENCYJNYCH

Temperatura	37°C
Dorośli (U/l)	135-240
Dzieci (2-15 lat) (U/l)	120-300
Noworodki( 4-20 dni) (U/l)	240-600

Zgodnie z zaleceniami IFCC, każde Laboratorium powinno ustalić własne zakresy wartości referencyjne, biorąc pod uwagę płeć, wiek, nawyki żywieniowe i inne czynniki populacyjne.

## PRZELICZANIE NA JEDNOSTKI SI

$\text{LDH (U/l)} \times 0.0167 = \text{LDH (ukat/l)}$

## OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale **MATERIAŁ**.

Próbki osocza należy odwirować przed wykonaniem oznaczenia.

Aby zapobiec kontaminacji odczynników należy stosować jedynie czyste i suche końcówki.

Zaleca się stosowanie materiału kontrolnego **Standatrol S-E 2 niveles** Wiener lab. Stosując materiały kontrolne innego producenta można otrzymać wartości poza zakresem dopuszczalnym, ponieważ są one zależne od zastosowanej metody lub analizatora.

## CHARAKTERYSTYKA TESTU

**a) Powtarzalność:** oznaczano jednocześnie, wiele razy próbki o różnym poziomie. Otrzymano następujące wyniki. Precyzja wewnątrz seryjna.

Poziom	S.D.	C.V.
150 U/l	$\pm 2.69$ U/l	1.8 %
250 U/l	$\pm 3.75$ U/l	1.5 %

**b) liniowość testu:** do 1000 mg/dl. W przypadku wyższych wartości należy rozcieńczyć próbkę solą fizjologiczną (1:4), powtórzyć badanie i pomnożyć badanie przez współczynnik rozcieńczenia.

**c) Czułość testu:** 4 mg/dl.

## WIENERLAB DOSTARCZA

84 ml: - 2 x 35 ml Odczynnika A

- 2 x 7 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1008121)

120 ml: - 1 x 100 ml Odczynnika A

- 1 x 20 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1999726)

120 ml: - 2 x 50 ml Odczynnika A

- 2 x 10 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1009213)

150 ml: - 2 x 60 ml Odczynnika A

- 2 x 15 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1009364)

150 ml: - 2 x 60 ml Odczynnika A

- 2 x 15 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1009625)

150 ml: - 2 x 60 ml Odczynnika A

- 2 x 15 ml Odczynnika B

(Nr kat. 1009933)


## ŹRÓDŁA


- 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.





# SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed


 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnych temperatur


 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii

 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca


 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 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