

## LACTATO DESHIDROGENASA (IFCC)

Reactivo líquido para la determinación de la enzima Lactato Deshidrogenasa en suero o plasma.

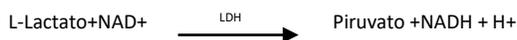
Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

### SIGNIFICANCIA CLINICA

La enzima Lactato deshidrogenasa se encuentra concentrada en el corazón, riñón, hígado, músculo y otros tejidos corporales. El daño a alguno de estos tejidos resulta en un aumento de los niveles séricos de LDH. Niveles elevados de LDH están asociados con infarto del miocardio, daño renal, hepatitis, enfermedades musculares y otras patologías. Existen a lo menos cinco isoenzimas de LDH dependiendo de su origen tisular.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

La enzima LDH cataliza la reacción reversible de lactato a piruvato, pudiendo utilizarse ambos como sustrato. Este reactivo se basa en el método de Wacker & Amador, y las modificaciones posteriores de Gay, Mc.Comb y Bowers, tendientes a mejorar la linealidad del método y la duración del reactivo.



En este caso, la enzima cataliza la oxidación de lactato a piruvato reduciendo el NAD a NADH. La concentración de LDH se determina midiendo el aumento de absorbancia a 340 nm. a medida que se produce NADH.

### REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición de los Reactivos:

Reactivo 1:	
Tris Buffer ph 8.9	100 mM
L-Lactato	60 mM
KCl	180 mM
Estabilizantes no reactivos	c.s.

Reactivo 2:	
Tris Buffer ph 8.9	50 mM
NAD	39 mM

Preparación del Reactivo de Trabajo: Mezclar 1 mL. de Reactivo 1 con 200 ul. de Reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción. Estabilidad del reactivo de trabajo: 4 días entre 2° y 8°C. Descartar el reactivo si su absorbancia es mayor de 0.6 a 340 nm. contra blanco de agua y paso de luz de 1 cm o presenta turbidez.

### MUESTRA

Utilizar de preferencia suero libre de hemólisis obtenido por centrifugación. La hemólisis eleva falsamente la concentración de LDH. En lo posible desechar el uso de plasma debido a la interferencia de los anticoagulantes, de otra forma, utilizar solamente plasma heparinizado. No se requiere una preparación especial del paciente. La LDH es estable por 7 días entre 2° y 8°C. No congelar las muestras ya que se destruye la isoenzima de origen hepático.

### MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestabilizada, capaz de medir absorbancia a 340 nm, baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

### TECNICA

Llevar el reactivo a la temperatura de reacción (30° ó 37° C.) y poner el espectrofotómetro en cero contra blanco de agua destilada.

	Calibrador	Muestra
Muestra (mL)	--	0.05
Calibrador (mL)	0.05	--
Reactivo de Trabajo (mL)	1.00	1.00

Mezclar y transferir a la cubeta del espectrofotómetro. Incubar 30 segundos a la temperatura de reacción. Leer la absorbancia inicial (A1) a 340 nm. Repetir las lecturas a intervalos de 60 segundos, hasta por tres minutos.

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

### CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
  - El lote de reactivo cambia
  - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
  - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

### CALCULOS

Determine el cambio de Absorbancia por minuto  $\Delta A/\text{min}$ )

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{\Delta A/\text{min. Calibrador}}$
Actividad LDH (UI/L) = Factor x $\Delta A/\text{min. Muestra}$

O bien se puede utilizar el siguiente factor:

Actividad LDH (UI/L) = $\Delta A/\text{min} \times 3376$
--

Factor = $\frac{V_t \times 1000}{\sum_{\text{NADH } 340} \times P \times V_m} = 3376$
---

$V_t$  = Volumen total de reacción  
 $\sum_{\text{NADH } 340}$  = Coeficiente de extinción del NADH a 340 nm.  
 P = Espesor del paso de luz en la cubeta  
 $V_m$  = Volumen de muestra utilizado

## CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Lactato Deshidrogenasa por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

## ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
- El factor podría variar en autoanalizadores por diferencia en el espesor de paso de luz. En este caso utilizar un calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130) para obtener el factor.
- Los rangos normales deben informarse de acuerdo a la temperatura a la cual se realiza el ensayo.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Contiene Azida de Sodio 0.05% (Nº CAS 26628-22-8) No peligroso a esta concentración. No ingerir. En contacto con metales pesados, como tuberías de cobre o plomo, podría formar azida metal que es explosiva, elimine los residuos con grandes volúmenes de agua y/o de conformidad con las regulaciones locales.
- En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.

## ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

-Linealidad: 1000 U/L.

Para valores superiores 1000 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 4 U/L.

- Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0003  $\Delta$  Abs/min

-Interferencias: Anticoagulantes (exceptuando heparina), hemólisis, bilirrubina sobre 20 mg/dL, y la lipemia (triglicéridos sobre 1000 mg/dL) pueden interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (3).

-Exactitud: Los reactivos VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

-Repetibilidad intraserie: n=20

Nivel	Media (U/L)	C.V.
Normal	141	0,82%
Patológico	222	0,85%

-Reproducibilidad interserie: n=20

Nivel	Media (U/L)	C.V.
Normal	141	1,05 %
Patológico	222	0,89 %

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador MINDRAY de la serie BS. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

-Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud

## RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

60 a 140 UI/L a 30°C      115 a 240 UI/L a 37°C

## PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO
130-150	Reactivo 1 Reactivo 2
300160	Reactivo 1 Reactivo 2
200160	Reactivo 1 Reactivo 2

## BIBLIOGRAFIA

1. Tietz, N.W. (ed) Fundamentals of Clinical Chemistry W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1976.
2. Gay, R.J., Mc Comb, R.B., and Bowers, G.H. Jr. Clin Chem 14, (740) 1978.
3. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4<sup>th</sup> ed. AACC Press, 1995.

REV Nº 2