

Determinación cuantitativa de lactato deshidrogenasa (LDH) IV D

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la reducción del piruvato por el NADH, según la siguiente reacción:


 La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de LDH en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima, distribuida por todo el organismo humano. Las mayores concentraciones de LDH se encuentran en el hígado, corazón, riñón, músculo esquelético y eritrocitos.

 El nivel de LDH en suero esta elevado en pacientes con enfermedades del hígado, infartos de miocardio, alteraciones renales, distrofias musculares y anemias^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Imidazol	65 mmol/L
Tampón	Piruvato	0,6 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrato		

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT) :

Mezclar: 1 vol. de (R2) Substrato + 9 vol. (R1) Tampón.

Estabilidad: 15 días a 2-8°C o 5 días a 15-25°C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 340 < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

 Suero¹. Separado lo antes posible de los hematies. No usar oxalatos como anticoagulantes ya que interfieren en los resultados.

No usar muestras hemolizadas. Estabilidad: 2 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda:340 nm
 - Cubeta:1 cm paso de luz
 - Temperatura constante25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

	25° - 30°C	37°C
RT (mL)	3,0	3,0
Muestra (µL)	100	50

- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

$$25^{\circ} - 30^{\circ}\text{C} \quad \Delta A/\text{min} \times 4925 = \text{U/L LDH}$$

$$37^{\circ}\text{C} \quad \Delta A/\text{min} \times 9690 = \text{U/L LDH}$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,33	1,92
30°C	0,75	1,00	1,43
37°C	0,52	0,70	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

25°C	30°C	37°C
120-240 U/L	160-320 U/L	230-460 U/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO
Rango de medida: Desde el límite de detección 4 U/L hasta el límite de linealidad 1450 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	337	548	345	553
SD	4.63	5,11	5.27	7.68
CV (%)	1.37	0,93	1.53	1.38

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00029 ΔA/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 100 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de regresión (r): 0.9925.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1.0059x - 1.1072.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La presencia de hemólisis interfiere con los resultados.

 Algunos anticoagulantes como los oxalatos interfieren en la reacción¹.

 Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la LDH^{2,3}.

NOTAS
SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.
BIBLIOGRAFÍA

- Pesce A. Lactate dehydrogenase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1124-117, 438.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

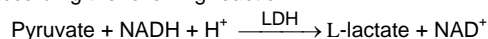
Ref: 41214	R 1	60 mL
	R 2	7 mL
Ref: 41215	R 1	225 mL
	R 2	25 mL

Quantitative determination of lactate dehydrogenase (LDH) IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Lactate dehydrogenase (LDH) catalyses the reduction of pyruvate by NADH, according the following reaction:



The rate of decrease in concentration of NADPH, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of LDH present in the sample¹.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Lactate dehydrogenase (LDH) is an enzyme with wide tissue distribution in the body.

The higher concentrations of LDH are found in liver, heart, kidney, skeletal muscle and erythrocytes.

Increased levels of the enzyme are found in serum in liver disease, myocardial infarction, renal disease, muscular dystrophy and anemia^{1,4,5}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

Reagent 1	Imidazol	65 mmol/L
Buffer	Pyruvate	0.6 mmol/L
Reagent 2	NADH	0.18 mmol/L
Substrate		

PREPARATION

Working reagent (WR) :

Mix: 9 vol. (R1) Buffer + 1 vol. (R2) Substrate

Stability: 15 days at 2-8°C or 5 days at 15-25°C.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm < 1.00.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C o 37°C (± 0.1°C)
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum¹. Separated from cells as rapidly as possible. Do not use oxalates as anticoagulants since they inhibit the enzyme.

Do not use haemolysed samples. Stability: 2 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 340 nm
Cuvette: 1 cm light path
Constant temperature 25°C /30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette:

	25° - 30°C	37°C
WR (mL)	3,0	3,0
Sample (µL)	100	50

- Mix, incubate for 1 minute.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute (ΔA/min).

CALCULATIONS

$$25^{\circ} - 30^{\circ}\text{C} \quad \Delta A/\text{min} \times 4925 = \text{U/L LDH}$$

$$37^{\circ}\text{C} \quad \Delta A/\text{min} \times 9690 = \text{U/L LDH}$$

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 µmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.33	1.92
30°C	0.75	1.00	1.43
37°C	0.52	0.70	1.00

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

25°C	30°C	37°C
120-240 U/L	160-320 U/L	230-460 U/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 4 U/L to linearity limit of 1450 U/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	Mean (U/L)	SD	CV (%)	
Mean (U/L)	337	548	345	553
SD	4.63	5,11	5.27	7.68
CV (%)	1.37	0,93	1.53	1.38

Sensitivity: 1 U/L = 0,00029 ΔA/min.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 100 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0.9925.

Regression equation: y= 1.0059x – 1.1072.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Haemolysis interferes with the assay.

Some anticoagulants such as oxalates interfere with the reaction¹.

A list of drugs and other interfering substances with LDH determination has been reported by Young et. al^{2,3}.

NOTES

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Pesce A. Lactate dehydrogenase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1124-117, 438.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: 41214		R 1	60 mL
		R 2	7 mL
Ref: 41215	Cont.	R 1	225 mL
		R 2	25 mL