

REF 10215-4 4 x 29 mL/8 mL

LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)

Cada compartimiento contiene una cantidad utilizable de 29 mL de reactivo R1 y 8 mL de reactivo R2.

USO PREVISTO

El reactivo de LDH EasyRA se utiliza para la determinación cuantitativa de la actividad de la Lactato deshidrogenasa (LDH) en suero y plasma humanos (con heparina de litio como anticoagulante), mediante el "Analizador químico clínico Medica EasyRA®".

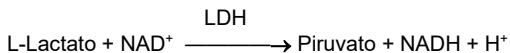
Utilizar únicamente para diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La lactato deshidrogenasa es una combinación de isoenzimas representes en gran número por infarto de miocardio, enfermedades del hígado y renales, anemias megaloblásticas y distrofia muscular avanzada.¹ El infarto de miocardio agudo se puede determinar con base en el análisis combinado de niveles de LDH y creatina kinasa.²

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El procedimiento del análisis enzimático se basa en el trabajo de Wacker³ e incluye las mejoras de Buhl y Jackson.⁴ La LDH cataliza la oxidación de lactato a piruvato y la reducción subsiguiente de NAD a NADH como se muestra a continuación:



La tasa de formación de NADH (medida por su absorbancia a 340 nm) es proporcional a la actividad del Lactato Deshidrogenasa en la muestra.

REACTIVOS

Reactivo buffer LDH (R1):

| | |
|----------------------------------------|------------|
| Lactato L-litio | 100 mmol/L |
| 2-Metil-2-Amino-1-Propanol (pH 8,8) | 600 mmol/L |

Reactivo sustrato LDH (R2):

| | |
|-----|----------|
| NAD | 6 mmol/L |
|-----|----------|

PRECAUCIONES

1. Se deben seguir buenas practicas de seguridad en el laboratorio cuando se manipula cualquier reactivo. (CLSI, GP17-A2).
2. Los reactivos contienen menos de 0,1% de azida sódica que puede reaccionar al entrar en contacto con tubos de plomo y cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Consulte la hoja de datos de seguridad para obtener información sobre los riesgos, el peligro y la seguridad.
3. Como en todos los casos de procedimientos de evaluación de diagnóstico, los resultados se deben interpretar teniendo en cuenta todos los otros resultados de las evaluaciones y el estado clínico del paciente.
4. No utilice cubetas lavadas.

INSTRUCCIONES PARA LA MANIPULACIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y LA ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

El reactivo está listo para usar. El reactivo que no fue abierto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacena a 2 - 8° C. El reactivo es estable una vez cargado en el área refrigerada para reactivos del Analizador EasyRA por la cantidad de días programados en el chip RFID que se encuentra en el compartimiento del reactivo. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO LA DE MUESTRA/ESTABILIDAD

Se debe utilizar suero o plasma claros y no hemolizados. Se pueden utilizar tubos recubiertos de heparina de litio para la recolección de plasma. Centrifugue y retire el suero lo antes posible después de la recolección, ya que la hemólisis provoca que los eritrocitos liberen grandes cantidades de LDH. La LDH en suero es estable durante 3 días a 2 - 8° C. Las muestras congeladas muestran disminución de la actividad en los valores de LDH.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

Compartimiento de reactivo LDH (Medica LDH Reagent Wedge), REF 10215

Materiales adicionales necesarios

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Nivel A, REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Nivel B, REF 10794

Método de diagnóstico Dye Test – Medica Precision Test Dye Wedge, REF 10764

Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE, REF 10660 o

Medica Cleaner Wedge – Chemistry, REF 10661

Instrucciones de uso

El reactivo está listo para usar. Retire la tapa del reactivo y colóquelo en la bandeja para el reactivo del Analizador EasyRA ubicada en el área de los reactivos. Una vez en el compartimiento, la estabilidad del reactivo (máximo 60 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos.

Nota: Verifique que no haya espuma dentro del cuello del compartimiento después de retirar las tapas y colocar el compartimiento en el Analizador EasyRA. Si encuentra espuma, retírela con un hisopo o una pipeta desechable antes de realizar el análisis. Utilice distintos hisopos o pipetas desechables para los R1 y R2.

Calibración

No corresponde.

Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control del suero humano (normal y anormal) en el ensayo todos los días, cada vez que se le realicen análisis al paciente, y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

Resultados

Al finalizar el ensayo, el Analizador EasyRA calcula la concentración de LDH a partir de la variación de absorbancia por minuto, el volumen de la muestra, el volumen de reacción total, la longitud de trayectoria (cm.) de 0,6 y la absorptividad molar de 6,22.

$$\text{LDH (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{VolumenTotal}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{AbsorptividadMolar} \times \text{PasodeLuz}(\text{cm.}) \times \text{Volumende la Muestra}(\mu\text{l}))}$$

Una unidad por litro (U/L) de actividad LDH es la cantidad de enzima que produce una $\mu\text{mol/L}$ de NADH por minuto.

Valores esperados⁵

El rango de referencia para la LDH en suero y plasma es el siguiente:

Masculino: 80 - 285 U/L (37° C)

Femenino: 103 - 227 U/L (37° C)

Estos valores son como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores debido a las diferencias que existen entre los instrumentos, los laboratorios y la población local.

Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)

Si la variación de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{Min}$) es superior a 0,1082, que corresponde aproximadamente a 800 U/L, el analizador marcará "SD" (depleción de sustrato). Si el operador selecciona el icono "Re-run", se puede volver a probar la muestra usando la mitad (1/2) del volumen de muestra. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen inferior de muestra. Esto aumentará el rango a reportar del análisis de LDH a 1600 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO⁶

Rango a reportar

El rango a reportar es de 5 hasta 800 U/L. El rango extendido es de 5 hasta 1600 U/L cuando se utiliza la mitad de la muestra (dilución 1:1).

Inexactitud/Correlación (CLSI, EP9-A2)

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del reactivo Medica para LDH (y) en el Analizador EasyRA con un reactivo similar para LDH (x) en el Analizador Roche COBAS MIRA*. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas obtenidas en el Analizador EasyRA vs. el promedio de dos valores replicados obtenidos en el analizador COBAS MIRA.

| | | | |
|-----------------------------|--------|-----------------------|----------------------|
| Número de muestras | 59 | Rango de muestras | 5 hasta 779 U/L. |
| Pendiente | 0,99 | Intercepto con y | 8,4 |
| Coefficiente de correlación | 0,9980 | Ecuación de regresión | $Y = 0,99 * X + 8,4$ |

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación de las muestras equivalentes de suero (x) y de plasma (y), en las que se utilizó el reactivo Medica para LDH en el Analizador EasyRA. Los datos que se muestran a continuación representan una determinación de plasma única en comparación con el promedio de dos valores de suero replicados.

| | | | |
|-----------------------------|--------|-----------------------|--------------------------|
| Número de muestras | 47 | Rango de muestras | 10 hasta 696 U/L |
| Pendiente | 0,9975 | Intercepto con y | 2,825 |
| Coefficiente de correlación | 0,9949 | Ecuación de regresión | $Y = 0,9975 * X + 2,825$ |

*Cobas Mira es una marca registrada de Roche Diagnostics Operations, INC., Indianápolis, IN.

Imprecisión (CLSI, EP5-A2)

Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días. Ambas ejecuciones de precisión están dentro de y la precisión total fue determinada de estos datos.

Dentro de la imprecisión corriente:

| Nivel del control de calidad U/L | Dentro de la actual depleción de sustrato U/L | Dentro del CV % |
|----------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------|
| 331,5 | 4,0 | 1,2 |
| 204,5 | 3,3 | 1,6 |
| 99,5 | 1,3 | 1,3 |

Imprecisión total:

| Nivel del control de calidad U/L | Imprecisión total de depleción de sustrato U/L | Imprecisión total del CV % |
|----------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------|
| 331,5 | 7,3 | 2,2 |
| 204,5 | 4,8 | 2,4 |
| 99,5 | 1,9 | 1,9 |

Linealidad (CLSI, EP6-A)

Lineal desde 5 a 800 U/L, con base en la ecuación de regresión lineal $Y = 1,017 * X + 14,48$.

Sustancias de interferencia (CLSI EP7-A)

Menos del 10% de interferencia fue clasificado como "interferencia no significativa".

Existe una interferencia significativa desde la hemólisis. No use muestras hemolizadas.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 20 mg/dL de bilirrubina.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 2000 mg/dL de triglicéridos (uso de Intralipid*).

*Intralipid es una marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.^{7,8}

REFERENCIAS

1. Kachmar JF, Moss DW in Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., NW Tietz, editor (W.B Saunders, Eds. Philadelphia USA) 1976: 652.
2. Roe CR et al. J Lab Clin Med 80:557 (1972).
3. Wacker WEC et al, New England J Med 255: 449 (1956)
4. Buhl SN, Jackson KY, Clin. Chem. 24:828 (1978).
5. Henry, RJ, Carman DC, and Winkelman JW. *Clinical Chemistry. Principles and Techniques*. Hagerstown, MD: Harper and Row. pp 819-831 (1974).
6. Datos de los archivos de Medica.
7. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC. AACC Press, 1995.
8. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.

Parámetros del ensayo (LDH) EasyRA

| | |
|------------------------------------------------------|------------|
| Longitud de onda (nm) | 340 |
| Tipo de reacción | Enzima (0) |
| Dirección de la reacción | Aumento |
| Blanco del reactivo | No |
| Blanco de la muestra | No |
| Variación máxima del primer intervalo de absorbancia | 0,055 |
| Tiempo de reacción | 4,4 min. |
| Intervalo de calibración (máximo) | N/A |
| Estabilidad integrada del reactivo | 60 días |

Suero o plasma

| | |
|--------------------------------------------|------------------------------------------|
| Volumen de la muestra (µl) | 7,0 |
| Volumen del diluyente (µl) | 20 |
| Volumen del reactivo (R1) (µl) | 132 |
| Volumen del reactivo (R2) (µl) | 34 |
| Puntos decimales (valores predeterminados) | 0 |
| Unidades (valores predeterminados) | U/L |
| Factor de dilución | 1:1 (para extender el rango de medición) |
| Linealidad | 5 hasta 800 U/L |
| Absortividad molar | 6,22 |