

Reactivo de LDH-P

Líquido de dos partes

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-8°C
Intervalo Lineal	:	Hasta 2000 U/L (33,3 µkat/L)
Tipo de muestra	:	Suero
Método	:	Cinético
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso.

IVD

USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro de la LDH en el suero humano en sistemas tanto manuales como automáticos.

RELEVANCIA CLÍNICA

La enzima lactato deshidrogenasa (LDH) se concentra en el corazón, en el riñón, en el hígado, en los músculos y en los tejidos corporales. Consecuentemente, un daño de estos tejidos tiene como resultado un aumento de los niveles séricos de LDH. Los niveles elevados se asocian con el infarto de miocardio, el daño renal, la hepatitis, la anemia, las neoplasias y las enfermedades o daños musculares.¹ Existen al menos cinco formas de LDH separables mediante electroforesis. La forma presente predominante varía dependiendo del tejido de origen y, por consiguiente, tiene valor diagnóstico.²

METODOLOGÍA

Aunque la actividad de la LDH se puede medir utilizando piruvato o lactato como sustrato, este reactivo utiliza piruvato y está basado en el procedimiento de Henry, y col³.



La LDH cataliza la reducción del piruvato a lactato oxidando el dinucleótido de nicotinamida adenina reducido (NADH) a NAD. La actividad de la LDH se puede determinar mediante la velocidad de disminución de la absorbancia a 340 nm a medida que se produce NAD.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos	Concentración
Reactivo 1:	
Ácido pirúvico	0,72 mmol/L
Tampón	60 mmol/L
Reactivo 2:	
NADH	1,8 mmol/L
Tampón	15 mmol/L

pH 7,5 ± 0,1 a 20°C

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene azida de sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre y de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo líquido de LDH-P de dos partes.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos se suministran listos para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

Cuando se almacenan entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

Una vez que se ha abierto el reactivo:

Cuando se almacenan cerrados entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

Indicaciones del deterioro del reactivo:

- Turbidez; y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado		Limitación de temperatura
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
LOT	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
REF	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso	REAG 1	Reactivo 1 (R1)
REAG 2	Reactivo 2 (R2)		

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Suero: Use suero no hemolizado.

Plasma: No recomendado.

Almacenamiento: Las muestras de LDH-L se pueden almacenar durante al menos entre 1 y 3 días a temperatura ambiente (18-25°C) y durante al menos 7 días a 4°C. No congele las muestras pues de este modo se destruiría la isoenzima hepática.

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 340 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas para muestras.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones para los instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	30°/37°C
Longitud de onda primaria	340 nm (334 - 365nm)
Longitud de onda secundaria	380 nm
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Disminución
Muestra: Proporción de reactivo	1 : 75 (R1) : 15 (R2)
p.ej. Vol de muestra	4 µL
Vol de reactivo 1	300 µL
Vol de reactivo 2	60 µL
Tiempo de retardo (muestra + R1)	< 5 minutos
Tiempo de retraso (muestra + R1 + R2)	> 60 segundos
Tiempo de lectura	3-4 minutos
Límites del blanco de reactivo (340 nm, paso de luz de 1 cm)	Bajo 1,3 UA Alto 2,0 UA
Linealidad (consulte la sección de Linealidad)	Hasta 2000 U/L (Hasta 33,3 µkat/L)
Sensibilidad (340 nm, paso de luz de 1 cm)	0,069 ΔmA/min por U/L (4.07 ΔmA/min por µkat/L)

CÁLCULOS

En general, el instrumento calcula los resultados de forma automática, como sigue:

Actividad en U/L = ΔAbs/min x Factor

$$\text{Factor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{\text{SV} \times 6,3 \times \text{P}}$$

En la cual:

TV	=	Volumen total de reacción en mL
SV	=	Volumen de la muestra en mL
6,3	=	coeficiente de absorción milimolar del NADH a 340 nm (Véase la nota 4)
P	=	Longitud del paso de la cubeta en cm.

Ejemplo:

ΔAbs/min	=	0,014
Factor	=	14444
LDH	=	0,014 x 14444 = 202 U/L

NOTAS

1. Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para adaptarse a los diferentes requerimientos del espectrofotómetro.
2. Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,08 /min, diluya con solución salina y repita el ensayo. Multiplique el resultado final por el factor de dilución.
3. Los resultados válidos dependen de un instrumento calibrado con precisión, de la distribución, y del control de la temperatura.
4. El coeficiente de absorción milimolar para el NADH a 334 nm = 6,18 y a 365 nm = 3,40.
5. Conversión de unidades: U/L x 16,67 x 10⁻³ = µkat/L

CALIBRACIÓN

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos cada ocho horas.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control. En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

1. Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, bilirrubina y lipemia. Se obtuvieron los siguientes resultados:
Hemoglobina: Evite el uso de muestras hemolizadas.
Bilirrubina libre: No se observa interferencia debida a la bilirrubina no conjugada hasta 278 µmol/L (16,3 mg/dL).
Bilirrubina conjugada: No se observa interferencia debida a la bilirrubina conjugada hasta 290 µmol/L (17 mg/dL).
Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como triglicéridos, hasta 5,25 mmol/L (465 mg/dL).
2. Young DS⁴ ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS³

A 37°C 140 - 300 U/L (2,34 - 5,01 µkat/L)

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁵

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo líquido de LDH-P de dos partes en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T.⁶

Intra análisis:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	317	896
Media (µkat/L)	5,29	14,96
DD (U/L)	3,50	8,26
DD (µkat/L)	0,058	0,138
CV (%)	1,1	0,9

Total:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	317	896
Media (µkat/L)	5,29	14,96
DD (U/L)	6,16	17,95
DD (µkat/L)	0,103	0,300
CV (%)	1,9	2,0

EXACTITUD

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando un reactivo de LDH-P disponible comercialmente similar como referencia. Se ensayaron las muestras de suero en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de mínimos cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	40
Intervalo de resultados de las muestras	181 - 477 U/L (3,02 - 7,97 µkat/L)
Media de los resultados de los procedimientos de referencia	263 U/L (4,39 µkat/L)
Media de los resultados de LDH-P	273 U/L (4,56 µkat/L)
Pendiente	0,99
Ordenada en el origen	-1,57 (-0,026 µkat/L)
Coefficiente de correlación	0,993

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 2000 U/L (33,3 µkat/L).


SENSIBILIDAD


Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,069 ΔmA/min por U/L (4,07 ΔmA/min por µkat/L).

BIBLIOGRAFÍA

1. Searcy, R. L., Diagnostic Biochemistry, McGraw-Hill, New York, NY, 1969.
2. Tietz, N. W., (Ed) Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, 1976.
3. Henry R.J., Chiamori N., Golub O.J., and Berkman S., Am.J.Clin.Path. 34(381), 1960
4. Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990; 3:221-4.
5. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF	Información de Pedidos	
	No de Catalogue	
	REAG 1	REAG 2
TL21401	5 x 80 mL	5 x 16 mL