

REACTIVO PARA LDH-L**USO:**

Para determinación cuantitativa de la actividad de lactato Deshidrogenasa en suero.

HISTORIA DEL METODO:

En 1955 se publicó el primer método cinético UV para determinación de la actividad de LDH. El proceso utilizaba la reacción clásica de Kubomitz y Ott 1943 usando el piruvato para pasar a lactato. En 1956 Wacker describió un proceso con una reacción de Lactato a

Piruvato, haciendo de esta reacción preferida aunque es mas lenta por su rango lineal mas amplio y no requiere de Pre-Incubación. Este método presente ha sido optimizado con mayor sensibilidad y linealidad.

PRINCIPIO:

La lactato Deshidrogenasa cataliza la oxidación de Lactato a Piruvato con reducción simultánea de NAD a NADH. La reducción de NAD se puede medir como un aumento en la absorbancia a 340 nm y es directamente proporcional a la actividad de LDH en suero.

REACTIVOS:

La concentración se refiere al reactivo reconstituido. NAD 7.0 mM, L-Lactato 50 mM, Tris Buffer, PH 9.0 + 0.1 (30oC) estabilizadores no reactivos.

PRECAUCION:

Para diagnóstico "In Vitro" solamente.

PREPARACION DEL REACTIVO:

Reconstituya de acuerdo a la etiqueta invierta suavemente para disolver.

ALMACEN DEL REACTIVO:

1. El Reactivo seco debe ser refrigerado de 2-8 °C
2. El Reactivo reconstituido es estable 21 días 2-8°C y por 8 horas a temperatura ambiente.

COLECCION Y ALMACEN DE LA MUESTRA:

1. Se recomienda suero no hemolizado. Las células rojas contienen grandes concentraciones de LDH.
2. Separe el suero del coágulo rápidamente.

3. Corra las muestras inmediatamente LDH en suero estable por 2 o 3 días.
4. No congele o exponga el suero a temperatura elevadas ya que eso puede inactivar la LDH.

INTERFERENCIAS:

Vea Young para obtener una lista de drogas y sustancias que interfieren con la LDH.

MATERIALES PROVISTOS:

Reactivo de LDH.

MATERIALES REQUERIDOS Y NO PROVISTOS:

1. Instrumentos de pipeteo precisos.
2. Tubos de ensayo/Gradilla.
3. Reloj.
4. Baño María o Bloc Térmico (37oC).
5. Espectrofotometro de 340 nm. (UV).

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Vea intrucciones del instrumento

PROCEDIMIENTO MANUAL:

1. Reconstituya el reactivo de acuerdo a las intrucciones.
2. Pipetee 1.0ml. de reactivo en los tubos apropiados y Pre-Incuba a 37oC por 5 minutos.
3. Ponga en ceros el espectrofotómetro con agua a 340 nm.
4. Transfiera 0.025ml (25 ul) de muestra al reactivo, mezcle e incube otro minuto.
5. Después de un minuto lea la absorbancia (A1) regrese los tubos a 37oC otro minuto.
6. Lea la absorbancia de nuevo (A2).
7. El cambio de la absorbancia (A2-A1) multiplique por el factor 6592 (vea cálculos) da el resultado en IU/L.
8. Las muestras con valores mayores de 800 IU/L deben diluirse 1:1 con solución salina, córrase de nuevo y multiplique por dos.

NOTA:

Si el espectrofotómetro tiene cubeta térmica la mezcla de reacción puede dejarse en ésta mientras se toman las lecturas.

CALIBRACION:

Este proceso está estandarizado por la absorción milimolar del NADH tomado con 6.22 a 340 nm. Bajo condiciones descritas.

CONTROL DE CALIDAD:

1. Utilice suero control normal y anormal para monitorear la reacción.

2. Lea el inserto para determinar la estabilidad del LDH.

CALCULOS:

Una unidad Internacional (U/L) es la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto.

$$IU/L = \frac{(A_2 - A_1) \times 1.025 \times 1000}{1 \times 6.22 \times 0.25 \text{ ML.}} = (A_2 - A_1) \times 6592$$

$$IU/L = \frac{(A_2 - A_1) \times 1.025 \times 1000}{1 \times 6.22 \times 0.25 \text{ ML.}}$$

Donde:

- (A₂-A₁) = Cambio en la Absorbancia.
 1.025 = Volumen de la reacción total en ml.
 1000 = Conversión de IU/ML a IU/L.
 1 = Trayecano de la luz en cm.
 6.22 = Absorción milimolar de NADH.
 0.025 = Volumen de la muestra en ml.

Para convertir a unidades SI (nkat/L) multiplique IU/L por 16.76.

CORRECCION DE TEMPERATURA.

1. Si la reacción se hace a 37°C y se reporta a 30, multiplique por 0.6.
2. Si la reacción se hace a 30°C y se reporta a 37, multiplique por 1.7.

NOTA:

Se sugiere que se reporte el resultado a la temperatura a la que fue elaborada la prueba.

VALORES ESPERADOS:

Varón: 50-166 IU/l (30°C) 80-285 IU/l (37°C)
 Hembra: 60-132 IU/l (30°C) 103-227 IU/l (37°C)

DESEMPEÑO:

Comparación. Un estudio de comparación dio un coeficiente de correlación de 0.996 con una ecuación de regresión y = 1.01 x - 2.5

Precisión:

Entre Pruebas		
Conc.	D.E.	C.V.%
129	3.0	2.3
340	7.0	2.1

Prueba a prueba		
Conc.	D.E.	C.V.%
132	3.0	2.2
358	9.0	2.5

REFERENCIAS:

1. Wroblewski, F., La Due, J.S., Proc. Soc. Exp. Biol. med. 90:210 (1955).

2. Kubowitz, F., Ott, P., Biochem. 314:94 (1943)
3. Wacker, W.E.C., et al, N., Engl. J. Med. 255:449 (1956)
4. Henry, R.J et al, Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2nd ed., Hagerstown (MD) Harper & Row, PP. 819-831, 1974).
5. Amador, E., et al Clin. Chem. 9391 (1963).
6. Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289 (1977)
7. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistri, 2nd Ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., p. 657 (1976).
8. Kreutzer, H.H., et al. Clin. Chim. Acta 9:64 (1964).
9. Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D (1975).

REV.2/91



DISTRIBUOTOR:
MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.
 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14
 San Diego CA. 92154
 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297
 www.mymssupply.com
 email: mail@mymssupply.com