LACTATE DEHYDROGENASE (LDH)





LACTATO DESHIDROGENASA (LDH) PIRUVATO

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La lactato deshidrogenasa (LD o LDH) cataliza la reducción del piruvato por NADH, obteniéndose lactato y NAD*. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de desaparición del NADH, medido a 340 nm1.².

CONTENIDO

	COD 11580	COD 11581
A. Reactivo	1 x 40 mL	1 x 160 mL
B. Reactivo	1 x 10 mL	1 x 40 mL

COMPOSICIÓN

A. Reactivo: Tris 100 mmol/L, piruvato 2,75 mmol/L, cloruro de sodio 222 mmol/L, pH 7,2

B. Reactivo: NADH 1.55 mmol/L. sodio azida 9.5 g/L

Nocivo (Xn): R22: Nocivo por ingestión. R31: En contacto con ácidos libera gases tóxicos. S28.1: En caso de contacto con la piel lavar inmediata y abundantemente con agua.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro

 Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco inferior a 1,200 a 340 nm (cubeta de 1 cm).

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo. Vaciar el contenido del Reactivo B en el frasco del Reactivo A. Agitar suavemente. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 4 mL de Reactivo A + 1 mL de Reactivo B. Estable 2 meses a 2-8°C.

MATERIAL ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatizable a 25, 30 ó 37°C para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.

MUESTRAS

Suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar. El suero o plasma debe separarse de los elementos celulares lo antes posible. No utilizar muestras hemolizadas.

La lactato deshidrogenasa en suero o plasma es estable 2 dias a temperatura ambiente y 24 horas a 2-8°C. Utilizar heparina como anticoagulante.

PROCEDIMIENTO

- 1. Precalentar el Reactivo de Trabajo y el instrumento a la temperatura de reacción.
- 2. Pipetear en una cubeta: (Nota 1)

	, ,	
Reactivo de Trabajo Muestra		1,0 mL 20 µL

- 3. Mezclar e insertar la cubeta en el fotómetro. Poner el cronómetro en marcha.
- Pasados 30 segundos, anotar la absorbancia inicial y efectuar nuevas lecturas cada minuto durante 3 minutos.
- 5. Calcular el incremento de absorbancia por minuto promedio ($\Delta A/min$)

CÁLCULOS

La concentración de LDH en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\triangle A/\min \times \frac{Vt \times 10^6}{\varepsilon \times 1 \times Vs} = Ut$$

El coeficiente de absorción molar (ϵ) del NADH a 340 nm es 6300, el paso de luz (l) es 1 cm, el volumen total de reacción (Vt) es 1,02, el volumen de muestra (Vs) es 0,02, y 1 U/L equivale a 0,01667 μ kat/L. Se deducen los siguientes factores para calcular la concentración catalítica:

ΔA/min	x 8095 = U/L x 135 = μkat/L

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	Adultos	
de reacción	U/L	μKat/L
25℃	105-210	1,70-3,50
30°C2	140-280	2,30-4,70
37°C1	207-414	3.40-6.80

Los valores a 25°C se han obtenido a partir de los de 30°C mediante un factor de conversión. Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Bioquímica niveles I (cod. 18005, 18009 y 18042) y II (cod. 18007, 18010 y 18043), para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 4.7 U/L = 0.078 μkat/L
- Límite de linealidad: 1250 U/L = 20,92 µkat/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/2 con agua destilada y repetir la medición.
- Repetibilidad (intraserie):

Concentración media	CV	n
324 U/L = 5,40 μkat/L	3,9%	20
1029 U/L = 17,15 μkat/L	2,3 %	20

- Reproducibilidad (interserie):

 CV	
 	5 5

- Sensibilidad: 0,123 ΔmA·L/U·min = 7,41 ΔmA ·L/μkat·min.
- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles baio solicitud.
- Interferencias: La hemólisis o la tardía separación del suero ocasionan resultados elevados debido a la elevada concentración de LD en los eritrocitos. La lipemia (triglicéridos < 10 g/L) y la bilirrubina (< 20 mg/dL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir³.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La lactato deshidrogenasa se encuentra presente en todas las células del organismo aunque sus mayores concentraciones se hallan en el hígado, corazón, riñón, músculo esquelético y eritrocitos

La concentración de LDH en suero o plasma está aumentada en pacientes con enfermedad hepática, alteraciones renales, infarto de miocardio, muchas enfermedades malignas, distrofia muscular progresiva y en casi cualquier causa de hemólisis^{4,5}.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

 Este reactivo puede utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.

BIBLIOGRAFÍA

- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de lactato deshidrogenasa en suero sanguíneo humano. Quím Clín 1989; 8: 57-61.
- Scientific Commitee. Recommandations pour la mesure de la concentration catalytique de la lactate deshidrogenase dans le serum humain a 30°C. Ann Biol Clin 1982; 40: 87-164.
- 3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER. Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.