

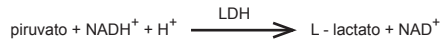
# LDH

## MÉTODO SFBC

Para la determinación "in vitro" de la lactato deshidrogenasa en suero o plasma

### PRINCIPIO

El enzima LDH cataliza la reducción del piruvato en presencia de NADH como cofactor, que se oxida a NAD<sup>+</sup> produciéndose un cambio en la Abs del medio. En condiciones óptimas de reacción, el  $\Delta$ Abs/min es proporcional a la concentración de enzima LDH presente en la muestra.



### UTILIDAD DIAGNÓSTICA

Se produce un aumento de los niveles de LDH en suero por la liberación del enzima de los tejidos. Se encuentran valores elevados en hepatitis, mononucleosis infecciosa, tumores malignos, pancreatitis, cirrosis o infarto de miocardio. También aumentan los valores en casos de distrofia muscular o anemias. Los valores por debajo de los habituales no son clínicamente significativos.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

### REACTIVOS

Kit 20 x 3 mL. (Ref. 99 82 87). Contiene:

- A. 20 viales NADH liofilizado Ref. 99 17 67  
B. 1 x 60 mL. Sustrato tamponado Ref. 99 91 25

### PREPARACION DEL REACTIVO DE TRABAJO

Reconstruir un vial de NADH liofilizado con el volumen de disolución tampón indicado en la etiqueta. Agitar suavemente hasta disolución total.

### COMPOSICIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Tampón tris-HCl pH 7,2	80 mM
Piruvato sódico	1,6 mM
NaCl	200 mM
NADH	0,20 mM
Estabilizantes y conservantes	

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit almacenados a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez reconstruido el reactivo, es estable 21 días a 2-8°C y 5 días a temperatura ambiente ( $\leq 25^\circ\text{C}$ ).

### Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de turbidez o de partículas. Blanco del reactivo de trabajo  $\leq 1,0$ .

### MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

Material de uso general de laboratorio.  
Espectrofotómetro, fotómetro o analizador automático termostatzado. Cubeta 1 cm de paso de luz.

### PRECAUCIONES

El reactivo contiene azida sódica al 0,09%, manipular con precaución. Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

### MUESTRA

Suero o plasma con heparina como anticoagulante. Utilizar muestras exentas de hemólisis. El enzima en suero es estable durante 2 días a 2-8°C. Las muestras congeladas se inactivan rápidamente.

### CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) en cada proceso de medida para verificar los resultados. Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones detectadas.

### AUTOANALIZADORES

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos, disponibles bajo demanda.

### INTERFERENCIAS

Los anticoagulantes citrato, yodoacetato, fluoruro y oxalato interfieren en la prueba. Como anticoagulante se aconseja la utilización de heparina.

Muestras hemolizadas pueden dar lugar a resultados falsos. Muestras de actividad muy elevada pueden dar lugar a una reacción muy rápida con extinciones iniciales bajas, al ser consumido el NADH en el primer minuto de reacción. Se aconseja en estos casos repetir el ensayo con la muestra diluida 1/10 con salina (NaCl 0,9%), y multiplicar el resultado por 10.

### PROCEDIMIENTO

El método que aquí se describe es el propuesto por la Sociedad Francesa de Biología Clínica. Llevar el reactivo de trabajo y el instrumento a la temperatura de trabajo (25°C, 30°C o 37°C).

Técnica (25°C/30°C)	Macro (mL)	Semimicro ( $\mu\text{L}$ )
R. de trabajo	3,0	500
Incubar 2-3 min. a la temperatura elegida (25°C, 30°C)		
Muestra	0,1	20

Técnica (37°C)	Macro (mL)	Semimicro ( $\mu\text{L}$ )
R. de trabajo	3,0	500
Incubar 2-3 min. a 37°C		
Muestra	0,05	10

Mezclar y poner en marcha el cronómetro. Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1,2,3 y 4 min. Determinar la  $\Delta$ Abs/min promedio de las lecturas.

### Lectura

Longitud de onda: 334 nm; 340 nm; 365 nm  
Blanco: agua  
Cubeta: termostatzada 1 cm de paso de luz

### CÁLCULOS

Se utiliza la fórmula indicada para obtener el factor para calcular las U/L:

$$\Delta\text{Abs/min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = \text{U/L}$$

Donde:

Vt: Volumen total de la mezcla de reacción;

Vs: Volumen de muestra

l: Paso de luz de la cubeta

$\epsilon$ : Coeficiente de extinción molar de NADH:

365 nm:  $3,40 \times 10^3$

340 nm:  $6,31 \times 10^3$

334 nm:  $6,17 \times 10^3$

Determinar la  $\Delta$ Abs/min. obtenida en cada lectura y hallar el valor medio.

$$\text{U/L} = \Delta\text{Abs/min} \times \text{Factor}$$

Factores de cálculo

		25-30°C	37°C
Macro	334 nm	5016	9871
	340 nm	4921	9682
	365 nm	9118	17941
Semimicro	334 nm	4207	8252
	340 nm	4127	8095
	365 nm	7647	15000

### VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	Adultos
25°C	120 – 240 U/L
20°C	160 – 320 U/L
37°C	225 – 450 U/L

Los valores indicados son a título orientativo. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO.

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados.

Los siguientes datos se han obtenido manualmente a 37°C y 340nm.

Sensibilidad, como límite de detección: 10 U/L

Linealidad: Hasta 2300 U/L. Para valores superiores se aconseja diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10.

Exactitud, como % de recuperación: 98,6%

Precisión en la serie, como Coeficiente de Variación: 2,0%

Precisión entre series, como Coeficiente de Variación: 3,4%

Veracidad: Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda

### BIBLIOGRAFÍA

Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., (1968) Clin. Chem., 14, 740 - 753.  
Comission Enzymologie de la Societé Française de Biologie Clinique. (1982) Ann. Biol. Clin., 40, 123 - 128.  
Methods of Enzymatic Analysis. (1983) 3rd edition, VIII, 118 – 126, Editado por H.U. Bergmeyer Verlag Chemie.

# LDH

## SFBC METHOD

For "in vitro" determination of lactate dehydrogenase in serum or plasma

### PRINCIPLE

The lactate dehydrogenase catalyzes the reduction of pyruvate with the aid of NADH as cofactor, which is oxidized to NAD<sup>+</sup>, giving an absorbance change. In optimum reaction conditions the  $\Delta\text{Abs}/\text{min}$  is directly related to LDH concentration in the sample.



### DIAGNOSTIC USE

Increased levels of LDH in serum are found in patients suffering from hepatitis, infectious mononucleosis, malignant tumours, pancreatitis, cirrhosis, or myocardial infarction, due to release of enzyme from the tissue. Values also increase in cases of muscular dystrophy or anemias. Values below the normal range are not clinically significant.

Single test result can not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

### REAGENTS

Kit 20 x 3 mL. (Ref. 99 82 87). Contents:

- A. 20 vials of freeze-dried NADH
- B. 1 x 60 mL Buffered substrate

Ref. 99 17 67  
Ref. 99 91 25

### WORKING REAGENT PREPARATION

Rehydrate one vial of NADH with the volume of buffered substrate stated on the label and mix gently.

### WORKING REAGENT COMPOSITION

The concentrations in the reagent solution are:

Tris-HCl buffer pH 7.2	80 mM
Sodium pyruvate	1.6 mM
NaCl	200 mM
NADH	0.20 mM
Stabilizers and preservatives	

### STORAGE AND STABILITY

The components of the kit, stored at 2-8°C, will remain stable until the expiration date stated on the label. The reconstituted reagent is stable for 21 days at 2-8°C and for 5 days at room temperature ( $\leq 25^\circ\text{C}$ ), when protected from the sunlight.

### Signs of reagent deterioration:

Reagent turbid or with visible particles. Working reagent blank:  $\leq 1.0$

### ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.  
Spectrophotometer; automated analyzer or photometer with thermostated cuvette, 1cm light path.

### CAUTION

The reagent contains sodium azide at 0.09%. Handle with care.  
The safety statements are on the label. It is advisable to look at the SDS before using the reagent.  
The disposal of the residues has to be made according to local regulations.

### SAMPLE

Serum, heparinized plasma. Samples free from hemolysis should be used. The enzyme in serum is stable for 2 days at 2-8°C. Frozen samples are rapidly inactivated.

### QUALITY CONTROL

Control serum, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) should be included in each test series. Each particular laboratory should establish its own control program.

### AUTOANALYZERS

Adaptations to different autoanalyzers are available on request.

### INTERFERENCES

It is recommended to use heparin as anticoagulant. Other anticoagulants, like citrate, oxalate, or fluoride may interfere with the test. Hemolyzed samples will give false results.  
When assaying high activity samples, a very low initial absorbance can be found, which is mainly due to the rapid consumption of the NADH at the early stage of the reaction. In such a case, dilute the sample with saline (NaCl 0.9 %) and assay it once again.

### PROCEDURE

The method described is the one proposed by the French Society of Clinical Biology. Bring the working reagent and the instrument to the working temperature (25, 30 or 37°C).

Technique (25°C/30°C)	Macro (mL)	Semimicro ( $\mu\text{L}$ )
Working reagent	3.0	500
Incubate 2-3 min. at 25 or 30°C		
Sample	0.1	20

Technique (37°C)	Macro (mL)	Semimicro ( $\mu\text{L}$ )
Working reagent	3.0	500
Incubate 2-3 min. at 37°C		
Sample	0.05	10

Mix and start the stopwatch. Transfer to the measuring cuvette.  
Read the absorbance after 1, 2, 3 and 4 min. Determine the average value of  $\Delta\text{Abs} / \text{min}$ .

### Reading

Wavelength: 334 nm; 365 nm; 340 nm  
Blank: Water  
Cuvette: Thermostated 1 cm light-path

### CALCULATIONS

The formula indicated is used to obtain the factor to calculate the U/L

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^3}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

Where:

Vt: Total volume of reaction mixture;  
Vs: Sample volume  
l: Cuvette light path  
 $\epsilon$ : Extinction coefficient of NADH:

365 nm: $3.40 \times 10^3$
340 nm: $6.31 \times 10^3$
334 nm: $6.17 \times 10^3$

Determine the average value of  $\Delta\text{Abs} / \text{min}$ .

$$\text{U/L} = \Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Factor}$$

Factors

		25°C - 30°C	37°C
Macro	334 nm	5016	9871
	340 nm	4921	9682
	365 nm	9118	17941
Semimicro	334 nm	4207	8252
	340 nm	4127	8095
	365 nm	7647	15000

### REFERENCE VALUES

Temperature	Adults
25 °C	120 - 240 U/L
30 °C	160 - 320 U/L
37 °C	225 - 450 U/L

The stated values are for guidance. Each particular laboratory should establish its own normal range, using its own instrumentation, blood collection methods and test procedures

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics depend on the method used. It is recommended to calculate these data for each particular test protocol. These results have been obtained using a manual method at 37°C and 340nm.

Sensitivity, as detection limit: 10 U/mL.

Linearity: Up to 2300 U/L. For higher values, it is recommended to dilute the sample 1/10 in saline (NaCl 0.9%) and assay once again. Multiply the final result by 10.

Accuracy: 98.6%

Repetitivity, as Coefficient of Variation: 2.0%

Reproducibility, as Coefficient of Variation: 3.4%

Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagent.

Details of the performance studies are available on request.

### REFERENCES

Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., (1968) Clin. Chem., 14, 740 - 753.  
Comission Enzymologie de la Societé Française de Biologie Clinique. (1982) Ann. Biol. Clin., 40, 123 - 128.  
Methods of Enzymatic Analysis. (1983) 3rd edition, VIII, 118 - 126, Editado por H.U. Bergmeyer Verlag Chemie.

---

---

# LDH

## MÉTHODE SFBC

Pour la détermination in vitro de la lactate déshydrogénase dans le sérum ou le plasma

### PRINCIPE

L'enzyme LDH catalyse la réduction du pyruvate en présence de NADH comme cofacteur, qui est oxydé en NAD<sup>+</sup>, produisant un changement dans l'Abs du milieu. Dans des conditions de réaction optimales, la ΔAbs/min est proportionnelle à la concentration d'enzyme LDH présente dans l'échantillon.



### UTILITÉ DE DIAGNOSTIC

L'augmentation des niveaux de LDH dans le sérum se produit par la libération de l'enzyme tissulaire. Des valeurs élevées se retrouvent pour l'hépatite, la mononucléose infectieuse, les tumeurs malignes, la pancréatite, la cirrhose ou l'infarctus du myocarde. Les valeurs augmentent également dans les cas de dystrophie musculaire ou des anémies. Les valeurs inférieures aux valeurs habituelles ne sont pas cliniquement significatives.

Un test de laboratoire unique ne peut pas établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenus.

### RÉACTIFS

Kit 20 x 3 mL. (Réf. 99 82 87). Contenu:

A. 20 x 3 mL NADH lyophilisé Réf. 99 17 67  
B. 1 x 60 mL Substrat tamponné Réf. 99 91 25

### PRÉPARATION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Reconstituer le contenu d'une fiole de NADH lyophilisé avec le volume de solution tampon indiqué sur l'étiquette. Agiter doucement jusqu'à dissolution complète.

### COMPOSITION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Tampon tris-HCl pH 7,2	80 mM
Pyruvate de sodium	1,6 mM
NaCl	200 mM
NADH	0,20 mM
Stabilisants et conservateurs	

### CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservés entre 2-8°C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Après reconstitution, le réactif est stable pendant 21 jours entre 2-8°C et 5 jours à température ambiante (≤25°C).

### Indications d'alteration du réactif:

Présence de particules ou de turbidité. Blanc du réactif de travail ≤ 1,0.

### MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel courant de laboratoire.  
Spectrophotomètre, analyseur automatique ou photomètre thermostaté. Cuvette: 1 cm de trajet optique.

### PRÉCAUTIONS

Le réactif contient de l'azide de sodium (0,09%) comme conservateur. Manipuler avec précaution. Les indications de sécurité sont sur l'étiquette des produits. On conseille de consulter la fiche des données de sécurité avant de manipuler le réactif. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

### ÉCHANTILLON

Sérum ou plasma avec l'héparine comme anticoagulant. Utiliser des échantillons exempts d'hémolyse. L'enzyme est stable dans le sérum pendant 2 jours entre 2-8°C. La congélation inactive rapidement les échantillons.

### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Nous recommandons l'inclusion de sérums de contrôle Seriscann normale (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormale (Réf 99 46 85) dans chaque processus de mesure pour vérifier les résultats. Nous suggérons que chaque laboratoire d'établir son propre programme et les procédures de correction des écarts dans les mesures de contrôle qualité.

### ANALYSEURS AUTOMATIQUES

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

### INTERFÉRENCES

Il est conseillé d'utiliser l'héparine comme anticoagulant. Les anticoagulants de type citrate, oxalate, fluorure et iodoacétate interfèrent avec l'essai. Les échantillons à très haute activité peuvent produire une réaction très rapide avec des extinctions initiales basses, car le NADH est consommé pendant la première minute de la réaction. Dans ces cas, diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9 %) et répéter l'essai. Multiplier le résultat par 10.

### TECHNIQUE

La méthode décrite est la proposée par la Société Française de Biologie Clinique. Incuber le réactif et l'analyseur à la température de travail. (25°C, 30°C or 37°C).

Technique (25°C/30°C)	Macro (mL)	Semi-micro (µL)
R. de travail	3,0	500
Incuber pendant 2 à 3 minutes à 25°C ou 30 °C.		
Échantillon	0,1	20

Technique (37°C)	Macro (mL)	Semi-micro (µL)
R. de travail	3,0	500
Incuber pendant 2 à 3 minutes à 37 °C.		
Échantillon	0,05	10

Mélanger puis mettre en marche le chronomètre. Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances toutes les minutes pendant 4 minutes.

Déterminer la valeur ΔAbs/min obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne.

### Lecture

Longueur d'onde: 334 nm; 365 nm; 340 nm  
Blanc: eau  
Cuvette: thermostatée de 1 cm de trajet optique

### CALCULS

Utiliser la formule indiquée pour obtenir le facteur de calcul des U/L

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{E \times l \times Vs} = \text{U/L}$$

Où:

Vt: Volume total  
Vs: Volume de l'échantillon  
l: Trajet optique  
E: Coefficient d'extinction de NADH:  
365 nm: 3,40 x 10<sup>3</sup>  
340 nm: 6,31 x 10<sup>3</sup>  
334 nm: 6,17 x 10<sup>3</sup>

Calculer la valeur ΔAbs/min obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne.  
U/L = ΔAbs/min. x Facteur

### Facteurs

		25°C - 30°C	37°C
Macro	334 nm	5016	9871
	340 nm	4921	9682
	365 nm	9118	17941
Semi-micro	334 nm	4207	8252
	340 nm	4127	8095
	365 nm	7647	15000

### VALEURS DE RÉFÉRENCE

Température	Adultes
25 °C	120 - 240 U/L
30 °C	160 - 320 U/L
37 °C	225 - 450 U/L

Les valeurs données sont indicatives. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

### PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Les résultats suivants ont été obtenus avec une méthode manuelle à 37°C et 340nm.

Sensibilité comme limite de détection: 10 U/L.

Linéarité: L'essai est linéaire jusqu'à 2300 U/L. Pour des concentrations plus élevées, diluer l'échantillon 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9%). Multiplier le résultat par 10.

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 98,6 %.

Coefficient de variation dans la série: 2,0%

Coefficient de variation entre les séries: 3,4%

Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.

L'étude détaillée de la performance du réactif est disponible sur demande.

### BIBLIOGRAPHIE

Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., (1968) Clin. Chem., 14, 740 - 753.  
Commission Enzymologie de la Société Française de Biologie Clinique. (1982) Ann. Biol. Clin., 40, 123 - 128.  
Methods of Enzymatic Analysis. (1983) 3e édition, VIII, 118 - 126, édité par H.U. Bergmeyer Verlag Chemie.