α-HBDH FS*

Reactivo para la determinación cuantitativa *In Vitro* de α-HBDH en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase						
1 3201 99 10 021	R1	5 x	20 mL	+	R2	1 x	25 mL
1 3201 99 90 305	R1	10 x	12 mL	+	R2	2 x	20 mL

Resumen [1,2]

La α-hidroxibutirato-deshidrogenasa (α-HBDH) es una isoenzima de la deshidrogenasa lactato (LDH) que emplea el hidroxibutirato como sustrato adicional. En comparación con otras isoenzimas de la LDH, se encuentra en concentraciones más elevadas en tejido del miocardio y, por tanto, es algo más sensible y específica para el diagnóstico de los infartos de miocardio. Con el fin de diferenciar las enfermedades hepáticas y cardíacas, puede utilizarse el cociente HBDH/LDH. Una reducción en el cociente HBDH/LDH indica una patología hepática parenquimal, mientras que puede detectarse un aumento del cociente en el caso de un infarto de miocardio.

Método

Test UV optimizado según la *Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie* (Sociedad Alemana de Química Clínica, DGKC).

Principio

$$\text{2-oxobutirato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\alpha\text{-HBDH}} \text{2-hidroxibutirato} + \text{NAD}^+$$

Reactivos

Componentes y concentraciones

R1:	Fosfato	pH 7,4	60 mmol/L
	2-oxobutirato		3,8 mmol/L
R2:	NADH		1 mmol/L

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 2 a 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. ¡No congelar los reactivos y protegerlos de la luz directa!

Advertencias y medidas de precaución

1. Los reactivos contienen azida de sodio (0,95 g/L) como preservo. No ingerir. Evitar el contacto con la piel y las mucosas.
2. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio.

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación de los reactivos

Procedimiento del substrato

Los reactivos ya están listos para usar.

Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra

Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2
(p. ej. 20 mL R1 + 5 mL R2) = reactivo de uso.

Estabilidad al almacenamiento:

5 días	entre	2 y 8 °C
8 horas	entre	15 y 25 °C

Protéjase el reactivo de uso de la luz directa.

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Muestras

Suero, plasma (heparina o EDTA)

Estabilidad al almacenamiento [3]:

3 días	de	15 a 25 °C
20 días	de	2 a 8 °C

¡No congelar las muestras!

¡Desechar las muestras contaminadas!

Esquema de la prueba

Hay disponibles, a petición, aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Paso óptico	1 cm
Temperatura	25 °C/30 °C/37 °C
Método de medida	respecto al aire

Procedimiento del substrato

Temperatura	**25 °C/30 °C**	**37 °C**
Muestra	20 µL	10 µL
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL
Mezclar, incubar 1 – 5 min. y entonces añadir:		
Reactivo 2	250 µL	250 µL
Mezclar, leer la absorbancia al cabo de 1 min. y poner en marcha el cronómetro. Volver a leer la absorbancia al cabo de 1, 2 y 3 min.		

Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra

Temperatura	**25 °C/30 °C**	**37 °C**
Muestra	20 µL	10 µL
Reactivo de uso	1000 µL	1000 µL
Mezclar, leer la absorbancia al cabo de 1 min. y poner en marcha el cronómetro. Volver a leer la absorbancia al cabo de 1, 2 y 3 min.		

Cálculo

A partir de las absorbancias interpretadas se calcula ΔA/min. y se multiplica por el factor correspondiente según la siguiente tabla:

ΔA/min x factor = actividad de α-HBDH [U/L]

Procedimiento del substrato

	25 °C/30 °C	**37 °C**
340 nm	10080	20000
334 nm	10275	20390
365 nm	18675	37060

Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra

	25 °C/30 °C	**37 °C**
340 nm	8095	16030
334 nm	8250	16345
365 nm	15000	29705

*Fluid Stable = líquido estable

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda el calibrador DiaSys TruCal U. Para el control de calidad interno deben medirse los controles DiaSys TruLab N y P con cada serie de muestras.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características

Rango de medida

El test está indicado para determinar actividades de α-HBDH que, como máximo, correspondan a un ΔA/min de 0,15 a 334 nm o 340 nm, o de 0,07 a 365 nm.
Si se sobrepasa este valor, se recomienda diluir las muestras en una proporción 1 + 9 con solución de NaCl (9 g/L) y multiplicar por 10 el resultado.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, con bilirrubina hasta 40 mg/dL, y con lipidemia hasta 2.000 mg/dL de triglicéridos. La hemoglobina interfiere aunque se presente en concentraciones bajas.

Sensibilidad del test/límite de prueba

El límite inferior de prueba es de 3 U/L.

Precisión (a 25 °C)

En la serie n=20	Valor medio (VM) [U/L]	Desviación estándar [U/L]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	100	2,21	2,20
Muestra 2	174	2,97	1,71
Muestra 3	388	4,20	1,08

De un día a otro n=20	Valor medio (VM) [U/L]	Desviación estándar [U/L]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	97,8	2,20	2,25
Muestra 2	177	2,01	1,14
Muestra 3	386	6,96	1,80

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys α-HBDH (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados con 64 muestras: y = 1,00 x – 1,00 U/L; r = 0,999.

Valores de referencia [4]

	25 °C	37 °C
Adultos [U/L]	< 140	< 182

HBDH/LDH = 0,63 – 0,81

Si se produce un aumento de la LDH y la HBDH:
lesión de miocardio HBDH/LDH > 0,9
patología hepática HBDH/LDH < 0,6

Cada laboratorio debería comprobar la adecuación de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. En: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W.B Saunders Company; 1999. pp. 617-721.
2. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1ª ed., Francfort: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 89-94
3. Einer G, Zawta B. Präanalytikfibel – Kooperation von Arzt und Labor. 2. Auflage Heidelberg; J.H. Barth 1991. p. 226-31
4. Elliot, BA. The serum hydroxybutyrate dehydrogenase in diseases other than myocardial infarction. Clin Sci 1963;24:343-55.

Fabricado por

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania