

LDH UV - PP

Kit para determinação da desidrogenase láctica (LDH) por metodologia cinética-UV.

REF. 457

MS 80022230084



Analisa

MÉTODO

Cinético-UV (Piruvato-Lactato).

FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da desidrogenase láctica (LDH) no soro.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Nas condições do ensaio, a LDH catalisa a conversão do piruvato para lactato, enquanto o NADH é oxidado para NAD⁺.

A atividade catalítica é determinada a partir da velocidade de desaparecimento do NADH medida em 340 nm.

Determina-se o decréscimo da absorbância em 340 nm, que é proporcional à atividade de LDH na amostra analisada.



SIGNIFICADO CLÍNICO

A LDH é amplamente distribuída no organismo, encontrando-se em altas concentrações no fígado, músculos esquelético e cardíaco, rins, hemácias e outros tecidos. Assim, níveis séricos elevados de desidrogenase láctica são observados em uma variedade de condições.

Os valores mais elevados são encontrados em pacientes com anemia megaloblástica, em carcinomas e no choque grave.

Elevações moderadas ocorrem em pacientes com infarto do miocárdio, infarto pulmonar, anemia hemolítica, leucemia, mononucleose infecciosa e nos pacientes com distrofia muscular progressiva.

Ligeiras elevações são encontradas em pacientes com hepatite aguda, nas icterícias obstrutivas e na cirrose. Valores elevados são encontrados no delírium tremens.

A desidrogenase láctica é também usada como um marcador de hemólise intravascular.

Níveis elevados são observados na maioria dos pacientes com infarto do miocárdio. Embora o grau de elevação não seja tão grande como o da CK, ele persiste por 10 a 14 dias.

A separação das isoenzimas é de grande valor para o diagnóstico do infarto do miocárdio. Uma relação LDH₁/LDH₂ maior que 1 é um dado seguro para o diagnóstico de infarto do miocárdio. Lembramos que na anemia megaloblástica a relação LDH₁/LDH₂ é também maior que 1.

A maioria dos pacientes com infarto pulmonar tem níveis elevados de LDH geralmente dentro de 24 horas do início da dor.

O encontro de CK total e CK-MB nos valores de referência e níveis elevados de LDH dentro de um a dois dias após um episódio de dor torácica é uma forte evidência de infarto pulmonar.

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética contínua em ultravioleta facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, possibilitando o preparo do volume de Reagente de Trabalho de acordo com a demanda do laboratório.
- Emprega o piruvato como substrato, que apresenta boa estabilidade e proporciona maior velocidade de reação.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C

1. **Coenzima** - Contém NADH 0,36 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.
2. **Substrato** - Contém tampão 250 mmol/L pH 7,5, piruvato 6 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

1. Presença de partículas e turbidez indicam deterioração dos reagentes.
2. A absorbância do Reagente de Trabalho em 340 nm deverá ser superior a 0,800 nm durante toda a sua utilização ou até a expiração da data de validade do mesmo.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro UV com cubeta termostaticada;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.

- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- O Coenzima (1) e o Substrato (2) contêm azida sódica. Não aspirar ou ingerir. Evitar contato com os olhos e a pele.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO.

O analito é estável por 24 horas entre 2-8 °C.

Devido a elevada concentração de LDH nos eritrócitos, uma demora na separação do soro ocasiona resultados elevados.

O soro ou plasma devem ser separados até 1 hora após a coleta.

Não utilizar amostras hemolisadas ou com sinais de contaminação bacteriana.

Nota

Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INTERFERÊNCIAS

A hemólise interfere produzindo resultados falsamente elevados.

A bilirrubina acima de 10 mg/dL produz resultados falsamente elevados e valores de triglicérides acima de 1800 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 340 nm
- Temperatura: 37 °C
- Tipo de reação: Cinética contínua decrescente

Preparo do Reagente de Trabalho

De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Coenzima (1) mais 1 volume de Substrato (2).

O Reagente de Trabalho é estável por 10 dias entre 2-8°C.

B. Técnica de Análise sem Calibrador

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra	20 µL

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostaticado a 37°C e acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial (A₀).

4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorbâncias (ΔA/minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o decréscimo de absorbância médio por minuto (ΔA/minuto médio).

Atenção

Uma absorbância inicial inferior a 0,800 indica que a amostra tem uma atividade enzimática de LDH alta. Neste caso, diluir a amostra e repetir o ensaio.

Cálculos

Ver Linearidade.

Considerando que o coeficiente de absorção milimolar do NADH em 340 nm no meio da reação é 6,3 deduz-se a seguinte fórmula para calcular a concentração catalítica : U/L de LDH em 340 nm = ΔA/minuto médio x 8095

Onde: ΔA/min médio = Variação média da absorbância por minuto.

O fator 8095 é calculado com base nas condições da reação cinética contínua.

Esse fator deve ser recalculado sempre que se fizer qualquer modificação nos parâmetros da reação.

Ver método para cálculo do fator.

Exemplo

Se ΔA/minuto do teste = 0,026

Atividade LDH em U/L = ΔA teste X 8095

LDH = 0,026 x 8095 = 210 U/L

Cálculo do Fator

Fator = (Vt x 1000) ÷ (ε x Va x d)

Vt = Volume total do ensaio = 1020 µL

Va = Volume de amostra = 20 µL

1000 = Conversão de U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm

ε = Absorbância milimolar do NADH em 340 nm = 6,3

Fator = (1020 x 1000) ÷ (6,3 x 20 x 1) = 8095

C. Técnica de Análise com Calibrador REF. 410 da Gold Analisa

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra ou Calibrador	20 mL

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostático a 37°C o tubo Teste ou Calibrador e acionar o cronômetro.
3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial (A₀).
4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.
5. As diferenças entre as absorbâncias (ΔA/minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.
6. Calcular o decréscimo médio de absorbância por minuto do Calibrador e do Teste (ΔA/minuto médio).

Notas

- 1- Utilizar o Calibrador REF. 410 da Gold Analisa. Ver Instruções de Uso e valor tabelado para LDH.
- 2- O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.
- 3- Uma absorbância inicial inferior a 0,800 indica que a amostra tem uma atividade enzimática de LDH alta. Neste caso, diluir a amostra e repetir o ensaio.

Cálculos

Ver Linearidade.
Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).
ΔA/minuto médio = Variação média da absorbância por minuto.
AC = Atividade de LDH do Calibrador = x U/L (Ver valor de LDH na tabela do Calibrador)
AT = Atividade de LDH do Teste em U/L = ΔA/minuto do Teste x FC
FC = Fator de Calibração = AC ÷ ΔA/minuto médio do Calibrador

Exemplo

Se ΔA/minuto médio do Calibrador = 0,051
Se ΔA/minuto médio do teste = 0,062
Se AC = 412 U/L (valor de LDH indicado na tabela do Calibrador)
FC = AC ÷ ΔA/minuto médio do Calibrador = 412 ÷ 0,051 = 8078
AT = Atividade de LDH do Teste = 0,062 x FC = 0,062 x 8078 = 501 U/L

Atenção

- As técnicas apresentadas são adequadas para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1000 µL.
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Conversão de Unidades

Unidade convencional (U/L) x 0,0167 = Unidade SI (µKat/L)

VALORES DE REFERÊNCIA PARA ADULTOS

Adultos: 200 a 480 U/L

Crianças:

De 1 a 3 anos	De 4 a 9 anos	De 10 a 13 anos
490 a 730 U/L	320 a 520 U/L	250 a 500 U/L

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos. O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos. Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa. É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁸

Linearidade

A reação é linear até 2000 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,2 e 1,3%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 14 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 4,8 e 4,7%

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, 3 ed, vol 3, Deerfield Beach: Verlag Chemie, 1983:118-125.
2. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4ª Ed - Editora Guanabara Koogan SA; 1998.
3. Kaplan A, Szabo LL, Opheim KE. Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques. Philadelphia: Lea & Febiger. 1988:186-189.
4. Meites S.: Pediatric Clinical Chemistry: Reference (Normal) Values, 3a. edição, AACC Press: Washington, 1989:180.
5. Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry, Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 1972;10:281-91.
6. Recommendations 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.
7. Westgard JO, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
8. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Reagentes	Volume
457M	Coenzima	1 x 24 mL
	Substrato	1 x 6 mL
457	Coenzima	2 x 24 mL
	Substrato	2 x 6 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto
Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230084
Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421
Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888
Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020
Home page: www.goldanalisa.com.br
E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br
Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por