



DESIDROGENASE LÁTICA - LDH

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

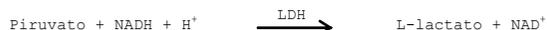
Teste Cinético-UV

FINALIDADE:

Kit para a determinação da atividade da Desidrogenase Lática no soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

A atividade da LDH é determinada a partir da velocidade de desaparecimento do NADH. A Desidrogenase Lática catalisa a conversão do piruvato em lactato na presença de NADH. Essa reação forma NAD⁺ e lactato. O consumo do NADH pode ser medido em 340nm.



SIGNIFICADO CLÍNICO:

A desidrogenase lática realiza a conversão do Piruvato em Lactato e apresenta ampla distribuição no organismo. Suas maiores concentrações estão no fígado, coração, rins, pulmão, baço, plaqueta, cérebro, leucócitos e músculo esquelético. Níveis séricos elevados de LDH estão presentes em pacientes com infarto do miocárdio, infarto pulmonar, leucemia aguda e anemia hemolítica. Pacientes com doença renal crônica também apresentam valores elevados de LDH. Pacientes com quadros de infarto do miocárdio apresentam elevação da LDH que permanece elevada por até 2 semanas. O LDH também é útil no diagnóstico de lesões expansivas do fígado.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2° a 8 °C.

R1 - TAMPÃO: TRIS (pH 7,5) 100mmol/L; Piruvato 0,6 mmol/L; Azida Sódica 0,09% p/v.

R2 - SUBSTRATO: NADH 0,18 mmol/L; Azida Sódica 0,09 p/v%.

PREPARO DOS REAGENTES

Misturar 4 partes do R1 a uma parte do R2. Homogeneizar suavemente.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados a temperatura de 2 a 8 °C, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso. Não congelar, evitar exposição prolongada a luz. Manter os reagentes em temperatura ambiente somente o tempo necessário para execução dos testes.

O reagente de uso é estável por até 4 semanas após seu preparo se armazenado sob temperatura de 2 a 8 °C. Manter o reagente de uso ao abrigo da luz.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado sob as condições de temperatura descritas acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. O reagente possui azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosas;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução dos testes;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes ou trocar as tampas, evitando assim, contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostaticizador na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro;

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

- **SORO, PLASMA (heparina)**

A desidrogenase lática é estável por 01 dia se conservada entre 2 e 8 °C.

INTERFERÊNCIAS

O uso de anticoagulantes pode ocasionar resultados alterados. Poderá ocorrer interferências em plasma com citrato, fluoreto, oxalato e heparina. Bilirrubina \geq 20 mg/dL, e Triglicérides \geq 1000mg/dL, também interferem nos resultados.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações

- 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;
- 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.

2. Termostatar o reagente

Ajustar a temperatura do banho-maria ou termostaticizador para 37 °C. A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste.

3. Leitura do teste

Comprimento de onda: 340nm;
Cubeta: 1cm;
Temperatura: 37 °C;
Medição: Zerar a absorbância contra branco (água deionizada). É necessário apenas um branco por bateria de testes.

4. Procedimento

Preparo do reagente: O reagente para o teste deve ser preparado na proporção de 4 partes de R1-TAMPÃO e 1 parte de R2-SUBSTRATO, homogeneizar suavemente. O reagente de trabalho é estável por até 04 semanas em temperatura de 2 a 8 °C.

Pipetar na Cubeta	Amostra
Amostra	20µL
Reagente	1000µL

Procedimento: Pipetar o reagente em um tubo de ensaio, homogeneizar e imediatamente incubar a 37 °C. Acionar o cronômetro. Após 1 minuto ler a absorbância inicial (A₀). Efetuar novas leituras a cada 60 segundos, por 03 minutos (A₁, A₂ e A₃).

5. Cálculos:

Após efetuadas as leituras das absorbâncias, calcular a média de variação das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

$$\Delta A/\text{min} = [(A_0 - A_1) + (A_1 - A_2) + (A_2 - A_3)] / 3$$

Para calcular a atividade da LDH, deverá ser usado o fator:
LDH (U/L) = $\Delta A/\text{min}$ x 8095

Exemplo: (A₀=1,312) (A₁=1,264) (A₂=1,223) (A₃=1,176)

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(1,312 - 1,264) + (1,264 - 1,223) + (1,223 - 1,176)}{3}$$

$$\Delta A/\text{min} = 0,045$$

$$\text{LDH (U/L)} = 0,045 \times 8095$$

$$\text{LDH (U/L)} = 367 \text{ U/L}$$

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação:

A linearidade do método é de até 2000 U/L. Para amostras com concentrações mais elevadas, diluir as amostras com 1 + 2 em solução salina a 0,9% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado por 3.

2. Valores de referência

Valores Normais	37 °C
Adultos	225 - 450 U/L
Crianças até 12 anos	Até 500 U/L

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

Conversão para SI: LDH (U/L) x 0,017 = LDH ($\mu\text{Kat/L}$)

3. Sensibilidade

10,12 U/L

4. Comparação de métodos

O kit para a dosagem da LDH foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes dentre esses soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

5. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as

recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de LDH da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV(%)
SC1	30	332,12	3,47	1,04
SC2	30	624,32	3,57	0,57
SC3	30	547,28	3,39	0,62

5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV(%)
SC1	10	333,98	3,61	1,08
SC2	10	628,23	3,78	0,60
SC3	10	548,32	3,51	0,64

6. Controle de qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de LDH da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	329	318	97%
SC2	674	681	101%
SC3	528	521	99%

Todo soro controle com valores determinados para a LDH, pelo método Cinético, pode ser utilizado.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CATÁLOGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/470-100	R1-TAMPÃO	1 X 80 mL	100
	R2-SUBSTRATO	1 x 20 mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- SCIENTIFIC DIVISION, WORKING GROUP ON ENZYMES. International Federation of Clinical Chemistry IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. Clin. Chim. Acta. v. 281, v.1-2, p.S5-S39, 1999.
- 2- KREUTZER, H. H.; FENNIS, W. H. S. Lactic dehydrogenase isoenzymes in blood serum after storage at different temperatures. Clin. Chim. Acta v.9,p.64-68, 1964.
- 3- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 4- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia

CNPJ:11.308.834/0001-85

Avenida José Cândido da Silveira 2100 - Horto Florestal - CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais - www.vidabiotecnologia.com.br

Departamento de Serviços Associados | (31)34663351; dsa@vidabiotecnologia.com.br

Resp Técn.: Renato Silva CRBIO4 - 57360/04-D
Reg. M.S.: 80785070046

Rev.: 02/2016

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
CAL	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
REF	Código do Produto
IVD	Produto para Diagnóstico In Vitro
LYOPH	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
R	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
LOT	Número de Lote