



LDH-P UV

Liquid Stable

Finalidade

Método UV otimizado (SFBC) para a determinação de lactato desidrogenase (LDH) em soro ou plasma.

Significado clínico

A determinação do lactato desidrogenase (LDH) tem uma grande variedade de aplicações clínicas. Visto que é uma enzima intracelular, sua elevação é indicio de dano tissular com a consequente liberação da enzima à circulação. O dano pode variar desde uma simples anoxia com ligeiro dano celular e perda de citoplasma até necrose celular severa gerando diversos graus de elevação da atividade enzimática.

No enfarte agudo do miocárdio, a atividade de LDH total (junto com a de CK e AST) constitui um elemento importante de diagnóstico. A atividade cardíaca começa a aumentar 12 a 24 horas após o enfarte, alcança um pico entre as 48-72 horas e permanece elevada até o sétimo ou décimo dia. Também se registra um aumento da atividade de LDH total em pacientes com necrose hepática (produzida por agentes tóxicos ou por infecções agudas como a hepatite viral) e também acompanhando necrose tubular renal, pielonefrite, etc. Nos tumores sanguíneos como leucemias e linfomas também são observados valores aumentados de LDH. No líquido cefalorraquidiano (LCR) o valor normal é aproximadamente 10% do seu valor em soro, aumentado marcadamente seu valor em meningites bacterianas. Nas meningites virais a LDH aumenta seu valor só em 10% dos casos.

Fundamentos do método

Baseado no seguinte esquema de reação:



As concentrações do ensaio estão otimizadas de acordo com a Sociedade Francesa de Biologia Clínica (SFBC).

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de tampão Tris pH 7,2 contendo piruvato e cloreto de sódio.

B. Reagente B: solução contendo NADH.

Concentrações finais (segundo SFBC)

Tris.....	80 mM; pH 7,2
Piruvato.....	1,6 mmol/L
NADH.....	0,2 mmol/L
CiNa.....	200 mmol/L

Instruções para uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem-se usar separados ou como Reagente único, misturando 4 partes de Reagente A com 1 parte de Reagente B (ex.: 4 mL Reagente A + 1 mL Reagente B).

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Uma vez abertos, não devem permanecer destampado nem fora do refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pre-misturado): é estável um mês sob refrigeração (2-8°C), a partir do momento de sua preparação.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Quando o espectrofotômetro for lavado a zero com água destilada, leituras de absorvância do Reagente único abaixo de 0,800 D.O. ou acima de 1,800 D.O. (a 340 nm) são indícios de deterioração do mesmo.

Amostra

Soro ou plasma

a) Coleta: deve-se obter soro do modo usual e separar do coágulo dentro de até duas horas após sua obtenção. Também pode-se utilizar plasma.

b) Aditivos: se for plasma, deve-se utilizar heparina como anticoagulante.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente fresca. A LDH é estável até 24 horas sob refrigeração. Não congelar.

Interferências

Não são observadas interferências por triglicérides até 570 mg/dL, bilirrubina até 18 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL (em amostras com níveis normais de LDH) ou até 350 mg/dL (em amostras com níveis elevados de LDH), nem heparina até 50 UI/mL. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Material volumétrico adequado.

- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento.
- Cronômetro.

Condições de reação

(Diminuição de absorvância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366)

- Temperatura da reação: 25, 30 ou 37°C. Vide os "Valores de referência correspondentes a cada temperatura.

- Tempo de reação: 3 minutos e 30 segundos.

Os volumes de amostra e reagente podem ser reduzidos proporcionalmente, sem que variem os fatores de cálculo.

Procedimento

I- Técnica com reagente único

A) 30-37°C

Em uma cubeta mantida à temperatura de trabalho, colocar:

Reagente único	1 mL
Pré-incubar alguns minutos, e adicionar a seguir:	
Amostra	20 uL

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Esperar 30 segundos. Ler a absorvância inicial (vide "Limitações do procedimento") e após aos 1, 2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorvância/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Empregar 100 uL de Amostra e 3 mL de Reagente único, seguindo o procedimento indicado em I-A).

II- Técnica com reagentes separados

A) 30-37°C

Em uma cubeta mantida a temperatura de trabalho, colocar:

Reagente A	1 mL
Amostra	20 uL
Pré-incubar alguns minutos, e adicionar a seguir:	
Reagente B	0,25 mL

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Esperar 30 segundos. Ler a absorvância inicial (vide "Limitações do procedimento") e após aos 1, 2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorvância/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Empregar 3 mL de Reagente A com 100 uL de Amostra e 0,75 mL de Reagente B, seguindo o procedimento indicado em II-A).

Cálculos dos resultados

$\text{LDH (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times \text{fator}$

Em cada caso deverá ser utilizado o fator de cálculo correspondente de acordo com à temperatura de reação selecionada (30-37°C ou 25°C) e à técnica empregada (com Reagente único ou separados) como se indica na seguinte tabela de fatores:

Técnica com reagente único

Long. onda	Temperatura	
	25°C	30-37°C
340 nm	4921	8095
334 nm	5016	8253
366 nm	9118	15000

Técnica com reagentes separados

Long. onda	Temperatura	
	25°C	30-37°C
340 nm	6111	10080
334 nm	6230	10275
366 nm	11324	18675

Exemplo:
(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Promédio
Absorbância A1	1,582		
Absorbância A2	1,503	0,079	
Absorbância A3	1,425	0,078	
Absorbância A4	1,347	0,078	0,078

Utilizando Fator teórico (37°C):
LDH (U/L) = 0,049 x 8095 = 396 U/L
Se é utilizado Laborlab como calibrador:
Concentração de LDH no calibrador: 526 U/L (37°C)

	Calibrador	Diferença	Promédio
Absorbância A1	1,528		
Absorbância A2	1,462	0,066	
Absorbância A3	1,397	0,065	
Absorbância A4	1,332	0,065	0,065

Determinação do fator de calibração:

$$\text{Fator} = \frac{[\text{LDH}]_{\text{calibrador}}}{\Delta A/\text{min}_{\text{calibrador}}} = \frac{526 \text{ U/L}}{0,065} = 8092$$

$$\text{LDH (U/L)} = \Delta A/\text{min}_{\text{Amostra}} \times \text{Fator} = 0,078 \times 8092 = 631 \text{ U/L}$$

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com atividades conhecidas de lactato desidrogenase, com cada determinação.

Valores de referência

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores (U/L)	120-240	160-320	230-460

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

$$\text{LDH (U/L)} \times 0,017 = \text{LDH (ukat/L)}$$

Limitações do procedimento

Ver "Interferências".

Absorbância inicial baixa: uma vez adicionado o soro, se a primeira leitura (tempo 0) for inferior a 0,800 D.O., estando o Reagente B em condições, indica uma amostra com atividade muito alta de LDH (que consome NADH ainda antes desta leitura). Neste caso, repetir a determinação com amostra diluída 1/10 com solução fisiológica e multiplicar o resultado pela diluição efetuada.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente duplicatas das mesmas amostras, obtiveram-se os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
439 U/L	± 3,64 U/L	0,8 %
919 U/L	± 11,41 U/L	1,2 %

b) Linearidade: o limite de linearidade é até 1000 U/L. Se o $\Delta A/\text{min}$ é superior a 0,120 D.O. (340-334 nm e 37°C), repetir a determinação com amostra diluída 1/5 ou 1/10 com solução fisiológica, corrigindo conseqüentemente os resultados.

c) Limite de quantificação: a mínima atividade quantificável de lactato desidrogenase é 24 U/L.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o Manual de Uso do analisador a ser utilizado.

Apresentação

2 x 48 mL Reagente A
2 x 12 mL Reagente B
(Cód. 1770210)

Referência

- Societé Français de Biologie Clinique (SFBC) - Ann. Biol. Clin. 40: 160, 1982.
- Sociedad Española de Química Clínica. Comité Científico, Comisión de Enzimas. - Quím. Clin. 57-61, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Européia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br