

LDH LIQUIUV - SCE MOD.

MÉTODO:

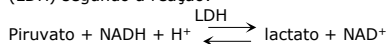
Cinético - UV.

FINALIDADE:

Reagentes para determinação da enzima desidrogenase láctica (LDH) presente em amostras biológicas (Soro e Plasma). Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

O método para a determinação do Lactato Desidrogenase (LDH) é um método modificado que se baseia nas recomendações do SCE (Scandinavian Committee on Enzymes). A redução do piruvato pelo NADH é catalizada pela lactato-desidrogenase (LDH) segundo a reação:



Cineticamente mede-se a atividade do LDH reagindo o soro com piruvato e NADH

SIGNIFICADO CLÍNICO:

Os níveis séricos elevados de LDH são observados em diferentes condições. Os valores mais altos (elevações 2 a 40 vezes) são vistos nos pacientes com anemia megaloblástica, naqueles com carcinomatose extensa e naqueles com choque severo e hipóxia. As elevações moderadas (2 a 4 vezes) ocorrem nos pacientes com infarto do miocárdio, infarto pulmonar, leucemia granulocítica ou leucemia aguda, doença de Hodgkin, anemia hemolítica, mononucleose infecciosa e distrofia muscular progressiva. Elevações relativamente pequenas ocorrem em pacientes com hepatite, icterícia obstrutiva ou cirrose, porém valores mais altos ocorrem naqueles com delirium tremens. Os pacientes com doença renal crônica, especialmente aqueles com síndrome nefrótica ou anemia hemolítica, também têm valores aumentados. Nos pacientes com mixedema, os valores de LDH são também elevados, supostamente devido a anormalidade muscular.

O padrão dos níveis séricos da LDH elevados nos pacientes com infarto do miocárdio é bem característico. Os níveis elevados são observados em quase todos os pacientes dentro de 24 horas após o aparente início do infarto. Os níveis persistem por 10 a 14 dias.

O grande número de condições nas quais os níveis da LDH estão elevados diminui a utilidade diagnóstica de suas medidas. O nível de LDH é clinicamente útil no reconhecimento de infarto do miocárdio e no infarto pulmonar. É também extremamente útil no diagnóstico das lesões expansivas do fígado. Pode também ser usada para monitorar o tratamento de câncer, já que a resposta à terapia está frequentemente refletida no declínio dos níveis séricos.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes:

BUF - Tampão: Tampão TRIS (pH 7,35) 62,5 mmol/L; Piruvato 1,5 mmol/L e Azida sódica 0,095%.

RGT - Substrato: NADH 0,75 mmol/L e Azida sódica 0,095%.

PREPARO DO REAGENTE DE USO:

Adicionar 2 mL do SUBSTRATO (SUB) a 8 mL do TAMPÃO (BUF) e homogeneizar.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis, mesmo depois de abertos, até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 a 8°C. A solução TAMPÃO (BUF) deve ser protegida da luz. Evitar contaminação dos reagentes. Reagente de Uso: Este reagente é estável por 3 semanas à 2 - 8°C e 3 dias à 15 - 25°C. O reagente de uso deve ser protegido da luz.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. 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 como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes. A solução tampão (BUF) e o substrato (SUB) contêm azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitem infecções, recomenda-se manuseá-las de acordo com as instruções de biossegurança.
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágüe deve ser exaustivo sendo o último enxágüe com água destilada ou deionizada.
- A rigorosa observação da temperatura, do tempo de incubação, da limpeza da vidraria, da estabilidade dos reagentes e da pipetagem é de extrema importância para se obter bons resultados.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

- SORO, PLASMA (Heparina, EDTA)
- Evitar soro com hemólise
- Após 3 dias a amostra apresenta uma perda de 8% atividade a 4°C e de 2% a 15-25°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

Fotômetro UV/VIS.
Pipetas.
Cronômetro.
Banho-maria/Termostatizador

MÉTODO DE ANÁLISE:

A - Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante a execução do teste.

B - Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: Hg 365 nm, 340 nm ou Hg 334 nm
Cubeta: 1cm
Temperatura: 25°C, 30°C ou 37°C
Medida: Contra o ar (decréscimo de absorbância)

C- PROCEDIMENTO:

Pipetar nas cubetas	25°C, 30°C	37°C
Amostra	20 µL	10 µL
Reagente de Uso	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar. Ler a absorbância após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após 1, 2 e 3 minutos.		

D. CÁLCULO:

Calcular a média das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$):

$$[(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)] / 3$$

Para calcular a atividade do LDH (U/L) aplicar ao $\Delta A/\text{min}$ os seguintes fatores:

Temperatura	25-30°C	37°C
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 334 nm) x	8250	16345
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 340 nm) x	8095	16030
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 365 nm) x	15000	29705

Exemplo:

340 nm - Temp. 25°C

$A_0 = 1,315$

$A_1 = 1,290$

$A_2 = 1,266$

$A_3 = 1,243$

$$\Delta A/\text{min} = [(1,290 - 1,315) + (1,266 - 1,290) + (1,243 - 1,266)] / 3$$

$$\Delta A/\text{min} = -0,024$$

$$U/L = -0,024 \times (-8095) = 194 \text{ U/L}$$

TÉCNICA ALTERNATIVA:

Para laboratórios cuja rotina é pequena, pode-se preparar menor volume de reagente de uso, guardando sempre a proporção de 2 partes do SUB para 8 partes do BUF ou utilizar o seguinte procedimento:

Pipetar nas cubetas	25°C, 30°C	37°C
Amostra	20 µL	10 µL
BUF	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar, incubar por 1 a 5 minutos a 25°C, 30°C ou 37°C.		
SUB	250 µL	250 µL
Homogeneizar. Ler absorbância após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 1, 2 e 3 minutos.		

CÁLCULO:

Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$). Para calcular a atividade LDH (U/L) aplicar os seguintes fatores:

Temperatura	25-30°C	37°C
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 334 nm) x	10275	20390
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 340 nm) x	10080	20000
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 365 nm) x	18675	37060

Exemplo:

Seguir o exemplo utilizado na técnica anterior, modificando apenas o valor do fator para calcular a atividade da LDH.

Fator de conversão de unidades internacionais (U/L) para o sistema internacional - SI (Kat/L):

$$1 \text{ U/L} = 16,67 \times 10^{-9} \text{ Kat/L} = 16,67 \times 10^{-3} \mu\text{Kat/L}$$

$$1 \mu\text{Kat/L} = 60 \text{ U/L}$$

Fator para a conversão dos resultados para IFCC:

$$U/L (\text{LDH SCE}) \times 0,4796 = U/L (\text{LDH IFCC})$$

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores pode ser fornecida quando solicitada.

LINEARIDADE DA REAÇÃO:

A reação é linear até 2404 U/L \pm 10% (340 nm à 37°C).

Se a média das diferenças das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$) for superior a 0,150 para Hg 334 nm e 340 nm ou superior a 0,07 para Hg 365 nm, diluir 0,1 mL de amostra com 0,9 mL de solução salina (0,9%) e repetir o teste. Multiplicar o resultado por 10.

VALORES DE REFERÊNCIA^{2,3}:

Temperatura	25°C	30°C	37°C	IFCC ⁴
Adulto	120-240 U/L	160-320 U/L	225-450 U/L	-
Mulher:	-	-	-	< 243
Homem:	-	-	-	< 244
Criança até 12 meses	Até 500 U/L	Até 500 U/L	Até 500 U/L	-

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método cinético UV-SCE para o LDH (Lactato desidrogenase) pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controle HUMATROL e SERODOS.

RECUPERAÇÃO EM SOROS CONTROLES:

Soros controle comerciais disponíveis foram usados. Os soros controle foram reconstituídos/preparados de acordo com as instruções do fabricante. Doze determinações de cada soro controle foram feitas com reagentes do LDH cinético UV de diferentes lotes. A média dos valores foi calculada e comparada com a média fornecida pelos respectivos soros controle.

REPETIBILIDADE:

Amostra	N	Média	DP	CV
Valor baixo	36	334,00	3,30	0,99
Valor médio	36	652,47	3,42	0,53
Valor alto	36	509,03	3,38	0,67

REPRODUTIBILIDADE:

Amostra	N	Média	DP	CV
Valor baixo	36	333,99	5,18	1,55
Valor médio	36	650,97	7,17	1,10
Valor alto	36	509,03	5,80	1,14

SENSIBILIDADE:

A partir da média do desvio-padrão do resultado encontrado da imprecisão dia-a-dia (reprodutibilidade), a sensibilidade pode ser calculada utilizando 3 desvios-padrões (DP):

Sensibilidade (3 x DP, DP_{25°C} = 5,180 U/L): 3 x 5,180 = 15,540 U/L.

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

O kit LDH cinético UV foi comparado com outros métodos para dosagem do LDH comercialmente disponíveis. Soros controle assim como 64 amostras de pacientes foram usados na comparação. Foram avaliados os resultados obtidos pelos métodos utilizados e também através de uma equação de regressão não-paramétrica de acordo com Bablok & Passing. A equação da regressão linear obtida foi: $Y = 0,971 X - 16,80$, e o coeficiente de correlação igual a $r = 0,999$. Ambos os métodos mostraram uma boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

APRESENTAÇÃO:

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste
12014	BUF RGT	1 x 80 mL 1 x 20 mL	100
625	BUF RGT	1 x 60 mL 1 x 15 mL	Varia de acordo com o equipamento

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: 31 3067-6400

e-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:

1. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., 8 (1970) 658; 10, 182 (1972).
2. WeiBhaar, D. et. al., Med. Welt, 26, 387 (1975).
3. Witt, I., and Trendelenburg, C.; J. Clin Chem. Clin. Biochem. 20, 235-242 (1982).
4. Schumann G. et. Al., Clin. Chem. Lab. Med. 40, 643-648 (2002).

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31 3067-6400

e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460250 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação