LDH liquiUV - SNIBE

MÉTODO
Cinético – UV-SCE

FINALIDADE
Reagentes para determinação da enzima desidrogenase láctica (LDH) presente em amostras biológicas de soro e plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

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:

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + H^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{lactato} + NAD^+$$

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 de 2 a 40 vezes) são vistos nos pacientes com choque severo e hipóxia. As elevações moderadas (2 a 4 vezes) ocorrem nos pacientes com infarto do miocárdio, infarto pulmonar, 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 apresentam valores aumentados. Nos pacientes com mixedema, os valores de LDH também podem estar elevados, supostamente devido à anormalidade muscular.
O padrão dos níveis séricos elevados de LDH 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 e permanecem elevados por 10 a 14 dias.
O grande número de condições nas quais os níveis de LDH estão elevados diminui a utilidade diagnóstica de sua determinação. A dosagem da atividade da LDH constitui um exame laboratorial complementar, devendo seus resultados ser interpretados em conjunto com os achados clínicos e outros exames laboratoriais.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 a 8ºC.

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 RGT a 8 mL do TAMPÃO BUF e homogeneizar. Este reagente é estável por 3 semanas à 2 - 8ºC e 3 dias à 15 - 25ºC. O reagente de uso deve ser protegido da luz.

ESTABILIDADE
Os reagentes são estáveis, mesmo depois de abertos, até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 a 8ºC. A solução TAMPÃO BUF deve ser protegida da luz. Evitar contaminação dos reagentes.

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 7 dias e em uma temperatura de até 37ºC.

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 RGT 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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra: Soro ou Plasma (Heparina, EDTA). Evitar soro com hemólise.

Estabilidade das amostras: Após 3 dias a amostra apresenta uma perda de 8% atividade a 4ºC e de 2% a 15-25ºC.

• O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8ºC) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE
A-Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (± 0,5ºC) durante a execução do teste.

B - Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: Hg 365 nm, 340 nm ou Hg 334 nm
Cubeta: 1cm
Temperatura: 25ºC, 30ºC ou 37ºC
Medida: Contra o ar (decréscimo de absorbância)

C- Procedimento de teste:

Pipetar nas cubetas	25ºC, 30ºC	37ºC
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. CÁLCULOS
Calcular a média das absorbâncias por minuto (Δ A/min):

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

Para calcular a atividade do LDH (U/L) aplicar ao Δ A/min os seguintes fatores:

Temperatura	25-30ºC	37ºC
Δ A/min (Hg 334 nm) x	8250	16345
Δ A/min (Hg 340 nm) x	8095	16030
Δ A/min (Hg 365 nm) x	15000	29705

Exemplo:
340 nm - Temp. 25ºC

$A_0 = 1,315$
$A_1 = 1,290$
$A_2 = 1,266$
$A_3 = 1,243$

Δ A/min = [(1,290 - 1,315) + (1,266 - 1,290) + (1,243 - 1,266)]/ 3
Δ A/min = - 0,024
U/L = - 0,024 X (-8095) = 194 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 RGT para 8 partes do BUF ou utilizar o seguinte procedimento:

Procedimento de teste:

Pipetar nas cubetas	25ºC, 30ºC	37ºC
Amostra	20 µL	10 µL
BUF	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar, incubar por 1 a 5 minutos a 25ºC, 30ºC ou 37ºC.		
RGT	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.		

CÁLCULOS
Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (Δ A/min). Para calcular a atividade LDH (U/L) aplicar os seguintes fatores:

Temperatura	25-30ºC	37ºC
Δ A/min (Hg 334 nm) x	10275	20390
Δ A/min (Hg 340 nm) x	10080	20000
Δ A/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 U/L = 16,67 x 10^{-9} Kat/L = 16,67 x 10^{-3} µKat/L
1 µKat/L = 60 U/L.
Fator para a conversão dos resultados para IFCC:
U/L (LDH SCE) x 0,4796 = U/L (LDH IFCC)

CALIBRAÇÃO
Para a calibração recomenda-se o uso do Multicalibrador de Bioquímica – Snibe de acordo com os procedimentos descritos em sua instrução de uso e tabela com valores. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

VALORES DE REFERÊNCIA[2,3]

Temperatura	25ºC	30ºC	37ºC	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 a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
O LDH liquiUV é calibrado com o Multicalibrador de Bioquímica – Snibe. O multicalibrador é calibrado com um calibrador comercial disponível, que é rastreável ao padrão Beckman Coulter LDH SCE.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
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.

Precisão
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, $DP_{25ºC}$= 5,180 U/L): 3 x 5,180 = 15,540 U/L.

Linearidade
A reação é linear até 2404 U/L ± 10% (340 nm à 37ºC).
Se a média das diferenças das absorbâncias por minuto (Δ A/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.

Interferentes
Nenhuma interferência no LDH liquiUV foi detectada até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	até 20 mg/dL
Bilirrubina	até 40 mg/dL
Hemoglobina*	forte interferência
Lipovenoso 20%	até 700 mg/dL
Triglicérides	até 2250 mg/dL

*A hemólise causa resultados elevados de LDH devido à liberação de LDH dos eritrócitos.

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.

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat. Nº	Reagente	Volume
820-2	BUF RGT	2 x 60 mL 2 x 15 mL

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).

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

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: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF-MG 4463
ANVISA: 10303460586 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO


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

REV. 07/26