

Bioclin



DESIDROGENASE LÁTICA LDH UV

K014

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação da Desidrogenase Láctica (LDH).
Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Cinética.

A Desidrogenase Láctica (LDH) catalisa a redução do piruvato com o NADH, obtendo-se lactato e NAD⁺. A concentração catalítica se determina a partir da velocidade de decomposição do NADH, medida pela queda da absorvidade a 340 nm.



REAGENTES

Número 1 - Substrato tamponado - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão TRIS 200 mmol/L pH 7,4; Piruvato 6 mmol/L e Azida Sódica 15 mmol/L.

Número 2 - Coenzima - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Borato 20 mM pH 10,0; NADH 0,32 mmol/L e Azida Sódica 15 mmol/L.

APRESENTAÇÃO

Reagentes	Volume
Reagente Nº 1.....	54 mL
Reagente Nº 2.....	6 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostaticado, pipetas, cronômetro, tubos de ensaio. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O Transporte em temperaturas entre 15 e 30 °C não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. Não congelar. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;
- 5 - É importante para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo e temperatura;
- 6 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise ou plasma colhido com EDTA ou heparina. A LDH é estável no soro ou plasma por 2 dias entre 2 e 8 °C.

INTERFERENTES

A hemólise ou a separação tardia do soro ocasiona resultados elevados devido à alta concentração de LDH nas hemácias. A Lipemia (Triglicérides > 1000 mg/dL) e a Bilirrubina (> 20 mg/dL) podem levar a resultados falsamente elevados.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

Preparo do Reagente de Trabalho
Misturar nove (9) partes do Reagente Nº 1 com uma (1) parte do Reagente Nº 2. O Reagente de Trabalho é estável durante 14 dias entre 2 e 8 °C.

Condições de reação: é condição indispensável o uso de cubeta termostaticada a 37° C, caminho óptico de 1cm e leitura em 340 nm.

Adicionar 20 µL de amostra a 1,0 mL do Reagente de Trabalho, misturar e transferir para cubeta termostaticada a 37°C e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto ($\Delta A/\text{min.}$) e utilizar para cálculo do resultado.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

$\text{LDH (U/L)} = \Delta A/\text{min.} \times 8016$

Os resultados serão expressos em U/L.

A reação é linear até a concentração de 2000 U/L.

Para uma variação média na absorbância a 340 nm maior que 0,12, repetir a determinação, diluindo a amostra com NaCl 0,85%. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

As especificações abaixo referem-se a equipamentos semi-automáticos:

O método cinético baseia-se na absorvidade molar e, por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições:

Comprimento de onda 340 nm

Semi trajetória da banda de passagem 10 nm

Luz espúria menor que 0,5%

Cubeta de 1cm termostaticada

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do laboratório clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão dos dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em U/L para o presente método foram obtidos através da determinação de LDH em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro ou Plasma: 200 a 480 U/L a 37 °C.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit foi comparado com outro método para dosagem de LDH comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. O coeficiente de regressão linear: $y = 0,9493x + 18,014$ e o coeficiente de correlação = 0,9986.

Com estes resultados pode-se concluir que o Kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade refere-se a 20 determinações sucessivas de LDH, utilizando-se 3 amostras com concentrações diferentes, encontrado-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	201,80	449,70	1065,30
Desvio Padrão (U/L)	2,42	8,03	11,42
Coefficiente de Variação (%)	1,20	1,79	1,07

REPRODUTIVIDADE

A reprodutividade refere-se 20 determinação de LDH, em 3 dias diferentes, com 3 amostras de concentração diferentes encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média / dia (U/L)	201,93	451,17	1066,33
Desvio Padrão (U/L)	0,42	1,93	0,93
Coefficiente de Variação (%)	0,21	0,43	0,09

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de LDH. A média de 0,23 U/L com desvio padrão de 0,12 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,59 U/L.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A Desidrogenase Láctica (LDH) se encontra presente em todas as células do organismo, sendo que as maiores concentrações estejam no fígado, coração, rim, músculo esquelético e eritrócitos. A concentração de LDH no soro ou plasma está aumentada em pacientes com enfermidades hepáticas, alterações renais, infarto do miocárdio, muitas enfermidades malignas, distrofia muscular progressiva e em qualquer caso de hemólise. O diagnóstico não deve ser feito levando em conta apenas o resultado de um único ensaio de LDH, mas deve-se integrar os dados clínicos com os de laboratório.

NÚMERO DE TESTES

60 Testes / 20 µL de amostra / 1,0 mL de Reagente de Trabalho

120 Testes / 10 µL de amostra / 0,5 mL de Reagente de Trabalho

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de lactato desidrogenasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1989; 8: 57-61.
2. Scientific Committee. Recommendations pour la mesure de la concentration catalytique de la lactate deshydrogenase dans le serum humain a 30°C. *Ann Biol Clin* 1982; 40: 87-164.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455

e-mail bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 08000 315454.

e-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro na ANVISA: 10269360074

Revisão: Junho/09