



Bilirrubina até 20 mg/dL e Triglicérides até 10g/L não interferem significativamente no resultado.
Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da LDH, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 340 nm.
Tipo de Reação: Cinética
Direção: Decrescente
Relação Amostra/Reativo: 1:40
Vol. Amostra: 25 µL
Vol. Reagente: 1,0 mL (800µL R1 + 200µL R2)
Tempo de Incubação: 30 segundos (retardo)
Intervalo de leitura: 1 minuto
Número de Intervalos: 2 - 3

Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram cód.7023/12023 que possui a concentração rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI, ou realizar a calibração através de fatoração, obtida através da absorção média milimolar do NADH a 340 nm (6.30) sob condições específicas.

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.
Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 2 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo o protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.
Nota: Adicionar as amostras no tubo somente no momento que antecede a aspiração do equipamento.

Procedimento Manual:

1. Preparar o Reagente de Trabalho: Misturar os reagentes na proporção: 1 parte do Reagente 2 + 4 partes do Reagente 1 (4mL R1 + 1mL R2).
2. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Calib.	Amostra/S.C.
Água destilada	25µL	-	-
Calibrador	-	25µL	-
Amostra/S.C.	-	-	25µL
Reagente de trabalho	1,0mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Adicionar 1,0 mL do reagente de trabalho em dois tubo e deixe em banho - maria (BM) a 37°C. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.
 4. Adicionar 25µL do calibrador e 25µL de água destilada em cada tubo.
 5. Aguardar de 30 segundos
 6. Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.
 7. Inserir no equipamento o tubo com o calibrador e registrar as absorbâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo após os 30 segundos de retardo) e as seguintes com 1 minutos de intervalo.
 8. Determinar as duas diferenças de absorbância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
 9. Determinar a média das diferenças de absorbância (Δ Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com os controles e todas as amostras.
- Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

(Abs. = Absorbância)
(Conc. = Concentração)
 Δ Abs. /min = (A2 - A1) + (A3 - A2) / 2

$$\frac{\text{LDH da Amostra (U/L)} \times \Delta \text{ Abs /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs /min (Calib)}} = \text{Conc. Do Calib (U/L)}$$

Exemplo:

Absorbância com o Calibrador
A1 = 0,008 / A2 = 0,023 / A3 = 0,038
Média Δ Abs/min = (0,023 - 0,008) + (0,038 - 0,023) / 2

Média Δ Abs/min (calib) = 0,015
Média Δ Abs/min (amostra) = 0,017 (calc. 1 dem acima)
Concentração do Calibrador = 383 U/L

LDH Amostra = (0,017 / 0,015) 383
LDH Amostra = 434 U/L
Obs: nkat/L = U/L x 16,67

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1250 U/L. Amostras com valores superiores a 1250U/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 4.7 - 1250 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e

ações correlativas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados:

Os seguintes valores são baseados nas medições desempenhadas a 37°C.

1 a 3 anos: 490 - 730 U/L
4 a 9 anos: 320 - 520 U/L
10 a 13 anos: 250 a 500 U/L
Adultos: 200 - 480 U/L

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de Amostras:	54
Intervalo dos resultados	5,0 - 634,0 (U/L)
Coefficiente de Correlação:	0,9987
Inclinação:	1,0132
Intercepta:	2,5(U/L)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com três níveis (baixo, normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Média (U/L)	126,2	391,0	715,3
D.P. (U/L)	1,9	3,1	3,4
C.V. (%)	1,5	0,8	0,5

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em quadruplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Média (U/L)	126,2	391,0	715,3
D.P. (U/L)	2,0	4,1	5,9
C.V. (%)	1,6	1,1	0,8

Sensibilidade Metodológica:

4.7 U/L

Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: R1= 8 x 10mL + R2= 4 x 5mL
Linha Hitachi 917: R1= 1 x 60mL + R2= 1 x 17mL
Linha Bulk: R1= 1 x 200mL + R2= 1 x 50mL
Linha SAT: R1= 2 x 36mL + R2= 1 x 18mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

Referência Bibliográfica:

1. Buhl, S.N., et al. Clin. Chem. 23:1289(1977).
2. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., p.657 (1976).
3. Young, D.S. Effects of drug on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz Textbook of clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005
9. Arquivos da EBRAM.

QUIMIDHL - Lactato Desidrogenase Piruvato > Lactato

Finalidade:

Reação enzimática para determinação quantitativa de lactato desidrogenase em amostras de soro e plasma humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

A enzima lactato desidrogenase (LDH) catalisa a redução do piruvato por NADH, obtendo-se lactato e NAD⁺. A concentração catalítica determina-se a partir da velocidade de desaparecimento do NADH, medido a 340nm.

LDH

Piruvato + NADH + H⁺-----> Lactato + NAD⁺

Metodologia:

Piruvato

Significado Clínico:

Valores elevados são encontrados em neoplasias em geral, doenças cardíaco-respiratórias com hipoxemia, anemias hemolíticas e megaloblásticas, mononucleose infecciosa e miopatias. No infarto do miocárdio, aumentos são notados cerca de 12 horas após o infarto e usualmente se normalizam após a TGO. Aumentos são observados também no infarto pulmonar. Outras causas de aumento são: hepatite, alcoolismo, infarto renal, pancreatite aguda, destruição excessiva de células, fraturas, obstrução intestinal. Na mononucleose com comprometimento hepático aumenta mais do que a TGO. Nas hepatites A,B ou C, ao contrário, a TGO aumenta muito mais do que a LDH.

Reagentes:

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C.

Contém: Tris 100mmol/L, piruvato 2,75 mmol/L, cloreto de sódio 222 mmol/L

Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: NADH 1,55mmol/L, azida de sódio 9,5 g/L.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto, e o on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

REAGENTE DE TRABALHO

Para alguns analisadores é necessário preparar o Reagente de Trabalho (verifique o protocolo do analisador): Preparar 4 partes do reagente 1 para 1 parte do reagente 2. Ex.: 4mL de R1 + 1mL de R2. O reagente após o preparo é estável por até 60 dias quando armazenado entre 2 - 8°C ao abrigo da luz.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Separar o soro ou plasma logo após a colheita.

Não usar se a absorbância do branco ultrapassar 1.2 quando medido em 340 nm (cuveta de 1cm), se o reagente estiver turvo ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância de 340 nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Consumíveis do analisador quando usado.
4. Soros Controle e Calibrador
5. Medidor de tempo.

Amostra:

Soro livre de hemólise ou plasma heparinizado são recomendados. O soro deve ser separado do coágulo rapidamente. O LDH no soro é estável por 2 dias a temperatura ambiente ou 24 horas a 2-8°C. Não congelar ou expor o soro à altas temperaturas (37°C), pois pode inativar as isoenzimas termolábeis da LDH. Todas as amostras são consideradas potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

Interferências:

Amostras hemolisadas ou amostras que foram separadas tardiamente, ocasionam resultados elevados devido a grande concentração de LDH nos eritrócitos.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S-SR1
Calibration Mode:	Calibr (Slope AVG)
Reagent Blank:	REAG / DIL
Cleaner:	SELECT
Wavelength:	340nm
Decimal Position:	0
Unit:	U/L
ANALYSIS	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: NO	Conc. Factor: NO
Sample:	Cycle: 2
Volume:	Dil: 20.0 ul
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	180ul
Start Reagent 1:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 10.0 ul
Start Reagent 2:	Cycle:
Volume:	Dil:
CALCULATION	
Sample Limit:	0.500
Point:	T2
Reaction Direction:	DECREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.000
Offset:	0.000
Test Range Low:	0
High:	1250
Norm Range Low:	200
High:	480
Number of Steps:	1
Calculation Step A:	KINSEARCH
Readings First:	9
Last:	15
Reaction Limit:	0.5500
Point:	T2
Calib. Interval:	ON REQUEST
CALIBRATION	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	0.0000
Blank Range Low:	-0.0050
High:	1.5000
Blank Range High:	0.0050
Factor:	
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc. Model:	
Correction STD:	
Replicate:	Duplicate
Deviation:	5%
CONTROL	
CS1 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	
CS2 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	
CS3 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	

(*) colocar a posição correspondente do controle do Rack CAL/CS

(**) colocar o valor correspondente do calibrador

(***) colocar o valor correspondente do soro controle

Utilizar o produto na forma Bireagente

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: LDH	Test: LDH
Test Bar Code:	
Test Type: KINETIC	Curve Type: ENZYME LINEAR
Units: U/L	Nº of Decimal Places: 0
Primary Wavelength: 340	Secondary Wavelength: 380
Read Time Interval: 80	Sample Blank: NO
Factor:	
Calibration Interval: (*)	
Normalization Interval: (*)	
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2
Low Blank A Limit: 0.000	High Blank A Limit: 0.800
Low A Limit: 0.000	High A Limit: 1.400
Low Normal: 200	High Normal: 480
Linearity Limit: 1250	Curve S.D. Limit: 15.00
Test Name: LDH	Test: LDH
Test Bar Code:	
Sample Volume: 13 ul	Sample Diluent:
Run Dilution Ratio: 2	Dilution Ratio: 1
Reagent Dilution:	
	Reagent Volume
	Bar Code
	Diluent Volume
	Lag Time
Reagent 1	260
Reagent 2	ZD1A
Reagent 3	-
Reagent 4	40 sec.
Contm:	

Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

(*) Introduzido pelo operador (1 - 999)

Ebram Prods.Laboratoriais Ltda@.

Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho

São Paulo - SP - Cep: 03059-001

Tel.: (11) 2291-2811

Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

www.ebram.com

sac@ebram.com

SAC.: (11) 2291-2811

Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen

CRF-SP - 37.451

Nº do Reg. MS: 10159820162

Edição: Fev/17

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	LDH
Abbr Name:	LDH
Mode:	KINETIC
Wavelength:	340 nm
Units:	U/L
Decimals:	0
Low Conc:	0.000 U/L
High Conc:	1250 U/L
Calibrator Name:	(*)
Repeat:	2
Number:	1
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	NO
Prozone Check:	
Ref Male Low:	200
Ref Male High:	480
Ref Female Low:	200
Ref Female High:	480
Ref Pad Low:	(*)
Ref Pad High:	(*)
Control 1:	(*)
Control 2:	(*)
Control 3:	(*)
Correlat Factor:	1.000 U/L
Correlat Offset:	0.000 U/L

DUAL MODE

Name:	LDH
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	250 ul
Run Volume:	252 ul
SAMPLE	
Normal Volume:	5 ul
Run Volume:	3 ul
R2 Bottle:	5 ml
Normal Volume:	0 ul
Run Volume:	0 ul
Predilution:	NO
Slope Blank:	NO
Delay Min Time:	77.230
Linearity Limit:	20.0%
Point One, Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.1000
R ABS H Limit:	3.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	
R ABS Deviation:	YES (***)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	(***)

MONO MODE

Name:	LDH
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25ml
Normal Volume:	250 ul
Run Volume:	252 ul
SAMPLE	
Normal Volume:	5 ul
Run Volume:	3 ul
Delay Min Time:	70.186
Linearity Limit:	20.0 %
Predilution:	
Incubation Time:	
Point One, Two:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
Substr Depletion:	
R ABS Deviation:	3.000
Reagent Blank:	YES (***)
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	
Factor:	(***)

(*) Introduzido pelo operador

(**) colocar o valor correspondente do calibrador

(***) Calculado pelo equipamento

(#) Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	LDH
Point Final:	
Units:	U/L
Mode Label:	
Wavelength:	340 nm
Filter:	
Tempo Estab:	
Tempo de Incubação:	060
Tempo de Intervalo:	060
Nº de Intervalos:	3
Temperatura:	37°C
Volume Amoçao:	0400
Tempo Amoçao:	0400
Tipo Resultado:	DECRESCENTE
Estandar:	(**)

APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	CIN
Label:	
Filter:	340
Temperature:	37°C
Volume Ass:	0400
Units:	U/L
Limite Lin:	1250 U/L
Incubação:	DECRESCENTE
Check:	PADRAO
Padão:	(*)
Factor:	
Delay Inlet:	080
Quant Inlet:	3
Tempo Inlet:	080
Tempo Estab:	

APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	CIN
WL1:	340
Blank:	
Blk Area Pad:	
Temp:	37°C
Vol Assm:	0400
Ref:	060
Pal:	
Padão:	SIM
Pal:	UNICA
Pal1:	(*)
Unit:	U/L
Dev:	0
Int Cin:	080
nº Inl:	3
dAMIN:	0.120
%Lim Lin:	10
Dir:	DECR
Lim Lin - Min/Max:	
Abs. Real - Min/Max:	0.00 / 1.00
Abs. Pad - Min/Max:	
Ur/Vn - Min/Max:	200 / 480

APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	DHL
Immunosay:	NO
Chemistry Type:	ZERO ORDER
Bio Item:	
Immuno Chemistry:	NO
% Sample Volume:	14 (7.0ul)
Wavelength:	340 nm (1)
Biochemical Chemistry:	
Biochemical Factor:	0 (NO)
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Deviation Limit:	-
Delay Time:	1.00
Blank Type:	
Incubate:	
% Reagent Volume:	70 (350 ul)
2nd Reagent:	NO
2nd Reagent Volume:	NO
A2 Delay:	
Units:	U/L (3)
Unit Factor:	1.000
Decimal Point:	0
RBI Low:	0.0
RBI High:	0.800
Range Low:	0
Range High:	1250
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	0.000
Standard Value:	(*)
Normal Low:	200
Normal High:	480
Slope:	1
Intercept:	0
C1*10E6:	0.0
C2*10E6:	98989.01
D1*10E6:	10.88
Delta R:	0.025
Linear Factor:	
Final Limit:	
Endcap Limit:	

(*) Colocar 1 como valor inicial. O valor do CAL FACT é determinado pelo ensaio de calibração

(*) colocar o valor correspondente do calibrador

APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit: U/L	Decimals: 0	Reaction Type: KINETIC
Volume (ul):	Serum: 8	Plasma: 8
	Reagent 1: 400	Reagent 2: -
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Max: 2000
Linearity Limit:	1250	Reagent Blank: NO
Contaminating:	NO	Differential: NO
Filter 1:	340 nm	Filter 2: NONE
Time (sec):	Mix 1: 0.00	Incubation 1: 80
	Mix 2: 0.00	Incubation 2: 0
Measurement Type: STANDARD		Factor: 0.00
Normal Range		
	Homens	Mulheres
Age (yrs)	Min.	Max.
Below 10:	0.00	0.00
From 10 to 80:	200	480
Over:	0.00	0.00

Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

Disponos de programações para outros analisadores e programações utilizando o reagente na forma BIREAGENTE ou como reagente de trabalho (MONOREAGENTE). Para solicitações entre em contato com SAC EBRAM.