

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMI – DHL LACTATO DESIDROGENASE	Página 1 de 3 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	--	--

USO

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

PRINCÍPIO

A enzima lactato desidrogenase (LDH) catalisa a oxidação de lactato para piruvato, com redução simultânea de NAD para NADH. O índice de redução de NAD pode ser medido pelo aumento na absorvância a 340nm. Este índice é diretamente proporcional a atividade de LDH no soro.

LDH

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

AMOSTRA.

Amostra: Soro livre de hemólise é recomendado

Armazenamento e estabilidade pré analítico : O LDH no soro é estável por 2 a 3 horas a temperatura ambiente. Não refrigerar, não congelar ou expor o soro à altas temperaturas (37°C) pois pode inativar as isoenzimas 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 seguindo orientação médica.

PRODUTO UTILIZADO

QUIMIDHL – DHL MS: **10159820162**

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

EQUIPAMENTOS

- **Procedimento Manual**

Espectrofotômetro ou fotômetro com cubeta termostaticada 37°C para leituras a 340 nm

Cubetas ou fluxo contínuo com 1.0 cm de passo óptico

Banho-Maria 37°C

Pipetas calibradas ou dispensador automático para reagentes e amostras

- **Procedimento Automatizado**

Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analisador automatizado, fazendo referência ao manual (ou POP) para utilização do mesmo

- **Procedimento alternativo**

Indicar o equipamento alternativo e os respectivos procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem automatizados.

CONTROLE DE QUALIDADE

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. 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. 12024/7024 e 12031/7031.

PROCEDIMENTO

- **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). Reagente assim preparado permanece estável por 15 dias a 2 - 8°C.

2. Colocar 1,00mL do reagente de trabalho no tubo referente ao soro controle.

3. Zerar o espectrofotômetro a 340 nm com água destilada.

4. Cuidadosamente, adicionar 25µL do soro controle/amostra no tubo correspondente, homogeneizar e deixar em BM a 37°C. Acionar o cronômetro.

5. Registrar as absorvâncias A1, A2, A3, quando completar 1, 2 e 3 minutos respectivamente.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMI – DHL LACTATO DESIDROGENASE	Página 1 de 3 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	--	--

6. Determinar a média das diferenças de absorbância (Δ Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com todas as amostras.

Nota: Realizar a incubação das amostras e soro controle individualmente.

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 μ L aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

- **Procedimento Automatizado**

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: Em um tubo de ensaio acrescentar 1,00mL do reagente de trabalho, adicionar 25 μ L de amostra/soro controle. Ler imediatamente no equipamento, preparar também um tubo contendo pelo menos 0,5 mL do reagente de trabalho (os equipamentos no início do procedimento, solicitam que seja introduzido o reagente para verificação da absorbância do reagente), seguir protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema. Pode-se utilizar o fator de calibração enunciado para o procedimento manual, pequenos ajustes podem ser necessários.

- **Precauções e cuidados especiais**

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.

Não usar se a absorbância do branco ultrapassar 0.8 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.

CÁLCULOS

$$\text{Média } \Delta \text{ Abs/min} = \frac{(A2-A1) + (A3-A2)}{2}$$

$$\text{LDH Amostra U/L} = \text{Média } \Delta \text{ Abs/min} \times \text{Fator}$$

$$\text{Fator} = 6592$$

RESULTADOS

- Unidade de medida: U/L
- Unidade de Conversão, nkat/L = U/L x 16,7
- Valores de Referência

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

24 meses-12 anos: 110 - 295 U/L

12 -60 anos: 100 - 240 U/L

>60 anos: 110 - 210 U/L

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

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1000 U/L. Amostras com valores superiores a 1000 U/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 2.4 e 1000 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Sensibilidade : 2.4U/L

- **Interferências:**

Amostras hemolisadas não devem ser usadas uma vez que os eritrócitos contêm uma grande concentração de LDH os quais irão interferir no teste.

Bilirrubina até 22.7 mg/dL, Hemoglobina 100mg/dL e Triglicérides até 533 mg/dL, não interferem significativamente no resultado.

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da LDH, sugerimos consultar Young et al.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMI – DHL LACTATO DESIDROGENASE	Página 1 de 3 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	--	--

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.

REFERÊNCIAS

1. Wroblewski, F., La Due, J.S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90:210(1955).
2. Kubowitz, F., Ott, P., Biochem. 314:94(1943).
3. Wacker, W.E.C., et al, N. Engl. J. Med. 255: 449 (1956).
4. Henry, R. J. et al, Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2end., Hagerstown (MD) Harper & Row, pp. 819-831,(1974).
5. Amador, E., et al, Clin. Chem. 9:391 (1963).
6. Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289(1977).
7. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., p.657 (1976).
8. Kreutzer, H.H., et al, Clin. Chem. Acta 9:64 (1964).
9. Young, D. S., et al, Clin. Chem., 21:1D (1975).
10. Motta, Valter T., Bioquímica Clínica para o Laboratório, 4 ed., Médica Missau,(2003).
11. Arquivos da EBRAM.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

VER ABR/14