

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIDHL – LACTATO DESIDROGENASE	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	---	--

USO

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 cárdio-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.

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

REAGENTES

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contem: Tris 100mmol/L, piruvato 2,75 mmol/L, cloreto de sódio 222 mmol/L

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

Os reagentes não abertos são estáveis ate a data de vencimento impressa no rotulo do produto, e e 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 e 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 apos o preparo e estável por ate 60 dias quando armazenado entre 2 – 8°C ao abrigo da luz.

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.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIDHL – LACTATO DESIDROGENASE	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	---	--

Não usar se a absorvância 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.

AMOSTRA.

Soro livre de hemólise ou plasma heparinizado é recomendado. 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 a altas temperaturas (37°C), pois pode inativar as isoenzimas termoláveis 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.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

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

PROCEDIMENTO

• Procedimento automático:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente. Aplicação no sistema semiautomático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 2 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo 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	1,0mL	1,0 mL

3. Adicionar 1,0mL do reagente de trabalho em dois tubos e deixar 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 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 absorvâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo após os 30 segundos de retardo) e as seguintes com 1 minuto de intervalo.
8. Determinar as duas diferenças de absorvância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
9. Determinar a média das diferenças de absorvância (Δ Abs/min).

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIDHL – LACTATO DESIDROGENASE	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	---	--

Proceder em seguida do mesmo modo com os controles e todas as amostras.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influencia no desempenho do teste.

Salientamos que volumes de amostras menores do que 10µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS

(Abs. = Absorbância)

(Conc. = Concentração)

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

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

RESULTADOS

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.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1250 U/L. Amostras com valores superiores a 1250 U/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.

Sensibilidade: 4.7 U/L

- **Interferências:**

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

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 enxague da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ mega ohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

REFERÊNCIAS

1. Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289(1977).
2. Tletz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., p.657 (1976).

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIDHL – LACTATO DESIDROGENASE	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	---	--

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
5. Arquivos da EBRAM.

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

VER Set/20