



QUIMIDHL - Lactato Desidrogenase

Piruvato > Lactato

REG. MS: 10159820162

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho

São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811

CEP 03059-001 | Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110

sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão Agosto/2023

FINALIDADE. Reação enzimática para determinação quantitativa de lactato desidrogenase em amostras de soro e plasma. 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.



METODOLOGIA. Piruvato

SIGNIFICADO CLÍNICO. Valores elevados são encontrados em neoplasias em geral, 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 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.

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância de 340 nm.
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Soros Controle e Calibrador
- Cronômetro

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 a 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.

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.

PARÂMETROS DO SISTEMA:

Temperatura	37°C
Comprimento de Onda	340nm
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 concentração rastreável à um calibrador mestre correlacionável à um método de referência, 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 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.

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

Tubos	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	25µL	-	-
Calibrador	-	25µL	-
Amostra S/C	-	-	25µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

- Adicionar 1,0 mL 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.
- Adicionar 25µL do calibrador e 25µL de água destilada em cada tubo.
- Aguardar 30 segundos
- Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.
- 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 minuto de intervalo.
- Determinar as duas diferenças de absorbância/min ($\Delta \text{Abs}/\text{min}$), subtraindo cada leitura de sua anterior.
- Determinar a média das diferenças de absorbância ($\Delta \text{Abs}/\text{min}$). 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. Salienciamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS.

(Abs. = Absorbância)
 (Conc. = Concentração)

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

LDH da amostra (U/L) =

$$\frac{\Delta \text{Abs /min (amostra)}}{\Delta \text{Abs /min (Calib)}} \times \text{Conc. do Calib (U/L)}$$

EXEMPLO.

Absorbância com o Calibrador

$$A1 = 0,008 / A2 = 0,023 / A3 = 0,038$$

$$\text{Média } \Delta \text{Abs/min} = (0,023 - 0,008) + (0,038 - 0,023) / 2$$

$$\text{Média } \Delta \text{Abs/min (calib)} = 0,015$$

$$\text{Média } \Delta \text{Abs/min (amostra)} = 0,017 \text{ (calc. I dem acima)}$$

$$\text{Concentração do Calibrador} = 383 \text{ U/L}$$

$$\text{LDH Amostra} = (0,017 / 0,015) 383$$

$$\text{LDH Amostra} = 434 \text{ U/L}$$

$$\text{Obs: nkat/L} = \text{U/L} \times 16,67$$

LINEARIDADE. 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.

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. 7024/12024 e 7031/12031.

VALORES ESPERADOS.

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

Caninos: 45 - 233 U/L

Felino: 63 - 273 U/L

Bovinos: 692 - 1445 U/L

Equinos: 162 - 412 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=40	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Média (U/L)	126,2	391,0	715,3
D.P. (U/L)	1,5	3,1	3,4
C.V. (%)	1,9	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 (mg/dL)	126,2	391,0	715,3
D.P. (mg/dL)	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 enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

LIMITAÇÕES DO TESTE.

Como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser avaliados juntamente com outras informações clínicas disponíveis para o médico.

APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica Geral: R1= 8 x 10mL + R2= 4 x 5mL

Linha Bulk: R1= 1 x 200mL + R2= 1 x 50mL

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
5. Arquivos da EBRAM.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO
 USO VETERINÁRIO		