



LDH-P UV

Liquid Stable

Finalidade

Método UV otimizado (SFBC) para a determinação de lactato desidrogenase (LDH) em soro ou plasma.

Significado clínico

A determinação do lactato desidrogenase (LDH) tem uma grande variedade de aplicações clínicas. Visto que é uma enzima intracelular, sua elevação é indicio de dano tissular com a consequente liberação da enzima à circulação. O dano pode variar desde uma simples anoxia com ligeiro dano celular e perda de citoplasma até necrose celular severa gerando diversos graus de elevação da atividade enzimática.

No enfarte agudo do miocárdio, a atividade de LDH total (junto com a de CK e AST) constitui um elemento importante de diagnóstico. A atividade cardíaca começa a aumentar 12 a 24 horas após o enfarte, alcança um pico entre as 48-72 horas e permanece elevada até o sétimo ou décimo dia. Também se registra um aumento da atividade de LDH total em pacientes com necrose hepática (produzida por agentes tóxicos ou por infecções agudas como a hepatite viral) e também acompanhando necrose tubular renal, pielonefrite, etc. Nos tumores sanguíneos como leucemias e linfomas, também são observados valores aumentados de LDH. No líquido cefalorraquidiano (LCR) o valor normal é aproximadamente 10% do seu valor em soro, aumentado marcadamente seu valor em meningites bacterianas. Nas meningites virais a LDH aumenta seu valor só em 10% dos casos.

Fundamentos do método

Baseado no seguinte esquema de reação:



As concentrações do ensaio estão otimizadas de acordo com a Sociedade Francesa de Biologia Clínica (SFBC).

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de tampão Tris pH 7,2 contendo piruvato e cloreto de sódio.

B. Reagente B: solução contendo NADH.

Concentrações finais (segundo SFBC)

Tris.....	80 mM; pH 7,2
Piruvato.....	1,6 mmol/L
NADH.....	0,2 mmol/L
CiNa.....	200 mmol/L

Instruções para uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem ser usados separadamente ou como Reagente único, misturando 4 partes de Reagente A com 1 parte de Reagente B (ex.: 4 mL Reagente A + 1 mL Reagente B).

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Uma vez abertos, não devem permanecer destampados nem fora do refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pre-misturado): é estável um mês sob refrigeração (2-8°C), a partir do momento de sua preparação.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Quando o espectrofotômetro for levado a zero com água destilada, leituras de absorbância do Reagente único abaixo de 0,800 D.O. ou acima de 1,800 D.O. (a 340 nm) são indícios de deterioração.

Amostra

Soro ou plasma

a) Coleta: deve-se obter soro do modo usual e separar do coágulo dentro de até duas horas após sua obtenção. Também pode ser utilizado plasma.

b) Aditivos: se for plasma, deve ser utilizada heparina como anticoagulante.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente fresca. A LDH é estável até 24 horas sob refrigeração. Não congelar.

Interferências

Não são observadas interferências por triglicerídeos até 570 mg/dL, bilirrubina até 18 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL (em amostras com níveis normais de LDH) ou até 350 mg/dL (em amostras com níveis elevados de LDH), nem heparina até 50 UI/mL.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Material volumétrico adequado.

- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento.

- Cronômetro.

Condições de reação

(Diminuição de absorbância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366)

- Temperatura da reação: 25, 30 ou 37°C. Vide os "Valores de referência correspondentes a cada temperatura.

- Tempo de reação: 3 minutos e 30 segundos.

Os volumes de amostra e reagente podem ser reduzidos proporcionalmente, sem que variem os fatores de cálculo.

Procedimento

I- Técnica com reagente único

A) 30-37°C

Em uma cubeta mantida à temperatura de trabalho, colocar:

Reagente único	1 mL
Pré-incubar alguns minutos, e adicionar a seguir:	
Amostra	20 uL

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Esperar 30 segundos. Ler a absorbância inicial (vide "Limitações do procedimento") e após aos 1, 2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorbância/min ($\Delta A/\text{min}$), subtraindo cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Empregar 100 uL de Amostra e 3 mL de Reagente único, seguindo o procedimento indicado em I-A).

II- Técnica com reagentes separados

A) 30-37°C

Em uma cubeta mantida a temperatura de trabalho, colocar:

Reagente A	1 mL
Amostra	20 uL
Pré-incubar alguns minutos, e adicionar a seguir:	
Reagente B	0,25 mL

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Esperar 30 segundos. Ler a absorbância inicial (vide "Limitações do procedimento") e após aos 1, 2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorbância/min ($\Delta A/\text{min}$), subtraindo cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Empregar 3 mL de Reagente A com 100 uL de Amostra e 0,75 mL de Reagente B, seguindo o procedimento indicado em II-A).

Cálculos dos resultados

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

Em cada caso deverá ser utilizado o fator de cálculo correspondente de acordo com a temperatura de reação selecionada (30-37°C ou 25°C) e a técnica empregada (com Reagente único ou separados) como indicado na seguinte tabela de fatores:

Técnica com reagente único

Long. onda	Temperatura	
	25°C	30-37°C
340 nm	4921	8095
334 nm	5016	8253
366 nm	9118	15000

Técnica com reagentes separados

Long. onda	Temperatura	
	25°C	30-37°C
340 nm	6111	10080
334 nm	6230	10275
366 nm	11324	18675

Exemplo:
(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Promédio
Absorbância A1	1,582		
Absorbância A2	1,503	0,079	
Absorbância A3	1,425	0,078	
Absorbância A4	1,347	0,078	0,078

Utilizando Fator teórico (37°C):
LDH (U/L) = 0,049 x 8095 = 396 U/L
Se é utilizado Laborcal como calibrador:
Concentração de LDH no calibrador: 526 U/L (37°C)

	Calibrador	Diferença	Promédio
Absorbância A1	1,528		
Absorbância A2	1,462	0,066	
Absorbância A3	1,397	0,065	
Absorbância A4	1,332	0,065	0,065

Obtenção do fator de calibração:

Fator = $\frac{[LDH_{calibrador}]}{\Delta A/min_{calibrador}} = \frac{526\text{ U/L}}{0,065} = 8092$

LDH (U/L) = $\Delta A/min_{Amostra} \times \text{Fator}$ = 0,078 x 8092 = 631 U/L

Método de controle de qualidade
Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com atividades conhecidas de lactato desidrogenase, com cada determinação.

Valores de referência

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores (U/L)	120-240	160-320	230-460

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

LDH (U/L) x 0,017 = LDH (ukat/L)

Limitações do procedimento

Ver “Interferências”.
Absorbância inicial baixa: uma vez adicionado o soro, se a primeira leitura (tempo 0) for inferior a 0,800 D.O., estando o Reagente B em condições, indica uma amostra com atividade muito alta de LDH (que consome NADH ainda antes desta leitura). Neste caso, repetir a determinação com amostra diluída 1/10 com solução fisiológica e multiplicar o resultado pela diluição efetuada.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente duplicatas das mesmas amostras, obtiveram-se os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
439 U/L	± 3,64 U/L	0,8 %
919 U/L	± 11,41 U/L	1,2 %

b) Linearidade: o limite de linearidade é até 1000 U/L. Se o $\Delta A/min$ é superior a 0,120 D.O. (340-334 nm e 37°C), repetir a determinação com amostra diluída 1/5 ou 1/10 com solução fisiológica, corrigindo conseqüentemente os resultados.

c) Limite de quantificação: a mínima atividade quantificável de lactato desidrogenase é 24 U/L.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o Manual de Uso do analisador a ser utilizado.

Apresentação

2 x 48 mL Reagente A
2 x 12 mL Reagente B
(Cód. 1770210)

2 x 60 mL Reagente A
2 x 15 mL Reagente B
(Cód. 1779625)

Referência

- Societé Française de Biologie Clinique (SFBC) - Ann. Biol. Clin. 40: 160, 1982.
- Sociedad Española de Química Clínica. Comité Científico, Comisión de Enzimas. - Quím. Clin. 57-61, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS

Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado na Comunidade Européia

Uso médico-diagnóstico "in vitro"

Conteúdo suficiente para <n> testes

Data de validade

Limite de temperatura (conservar a)

Não congelar

Risco biológico

Volume após da reconstituição

Conteúdo

Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Caústico

Irritante

Consultar as instruções de uso

Calibrador

Controle

Controle Positivo

Controle Negativo

Número de catálogo

LDH-P UV

Liquid Stable

Fin y uso

Método UV optimizado (SFBC) para la determinación de lactato deshidrogenasa (LDH) en suero o plasma

Significación clínica

La determinación de la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) tiene una gran variedad de aplicaciones clínicas. Por ser una enzima intracelular, su elevación es índice de daño tisular con la consecuente liberación de ésta a la circulación. El daño puede variar desde una simple anoxia con ligero daño celular y pérdida de citoplasma hasta necrosis celular severa generando diversos grados de elevación de la actividad enzimática.

En el infarto agudo de miocardio, la actividad de LDH total (junto con las CK y AST), constituye un elemento importante de diagnóstico. La misma comienza a elevarse 12-24 horas después de producido el infarto; alcanza un pico entre las 48-72 horas y permanece elevada hasta el séptimo o décimo día. También se registra un aumento de actividad de LDH total en pacientes con necrosis hepática (producida por agentes tóxicos o por infección aguda como la hepatitis viral) e incluso acompañando a necrosis tubular renal, pielonefritis, etc. En los tumores sanguíneos como leucemias y linfomas también se observan valores aumentados de la LDH. En el líquido cefalorraquídeo (LCR) el valor normal es de aproximadamente el 10% de su valor en suero, aumentando marcadamente su valor en meningitis bacterianas. En las meningitis virales la LDH aumenta su valor solo en el 10% de los casos.

Fundamentos del método

Basado en el siguiente esquema de reacción:



Las concentraciones del ensayo están optimizadas de acuerdo a la Sociedad Francesa de Biología Clínica (SFBC).

Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución de buffer Tris, pH 7,2 conteniendo piruvato y cloruro de sodio.

B. Reactivo B: solución conteniendo NADH.

Concentraciones finales (según SFBC)

Tris	80 mM, pH 7,2
Piruvato	1,6 mmol/l
NADH	0,2 mmol/l
ClNa	200 mmol/l

Instrucciones para su uso

Reactivos Provistos: listos para usar. Pueden usarse separados o como **Reactivo único**, mezclando 4 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-8°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados y fuera del refrigerador durante lapsos prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): en refrigerador (2-8°C) es estable 1 mes a partir de la fecha de su preparación.

Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único premezclado inferiores a 0,800 D.O. o superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener suero de la manera usual y separar del coágulo dentro de las dos horas de su obtención. También puede usarse plasma.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, debe usarse heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por triglicéridos hasta 570 mg/dl, bilirrubina hasta 18 mg/dl, hemoglobina hasta 180 mg/dl (en muestras con niveles normales de LDH) o hasta 350 mg/dl (en muestras con niveles elevados de LDH), ni heparina hasta 50 UI/ml.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. La LDH es estable hasta 24 horas en refrigerador. No congelar.

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro.

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.

- Material volumétrico adecuado.

- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento.

- Cronómetro.

Condiciones de reacción

(Disminución de absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366)

- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.

- Tiempo de reacción: 3 minutos y 30 segundos.

Los volúmenes de muestra y reactivo se pueden variar proporcionalmente sin que se alteren los factores de cálculo.

Procedimiento

I- TECNICA CON REACTIVO UNICO

A) 30-37°C

En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo único	1 ml
----------------	------

Preincubar unos minutos, luego agregar:

Muestra	20 ul
---------	-------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 30 segundos. Leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 25°C

Emplear 100 ul de Muestra y 3 ml Reactivo único, siguiendo el procedimiento indicado en I-A).

II- TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

A) 30-37°C

En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo A	1 ml
Muestra	20 u

Preincubar unos minutos, luego agregar:

Reactivo B	0,25 ml
------------	---------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 30 segundos. Leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 25°C

Emplear 3 ml de Reactivo A con 100 ul de Muestra y 0,75 ml de Reactivo B, siguiendo el procedimiento indicado en II-A).

Cálculo de los resultados

$$\text{LDH (U/l)} = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$$

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente de acuerdo a la temperatura de reacción seleccionada (30-37°C o 25°C) y a la técnica empleada (con Reactivo único o separados) como se indica en las siguientes tablas de factores:

Técnica con reactivo único

	Temperatura	
	25°C	30-37°C
Long. onda		
340 nm	4.921	8.095
334 nm	5.016	8.253
366 nm	9.118	15.000

Técnica con reactivos separados

	Temperatura	
	25°C	30-37°C
Long. onda		
340 nm	6.111	10.080
334 nm	6.230	10.275
366 nm	11.324	18.675

Ejemplo:
(Los datos presentados a continuación son ilustrativos)

	Muestra	Diferencia	Promedio
Absorbancia A1	1,582		
Absorbancia A2	1,503	0,079	
Absorbancia A3	1,425	0,078	
Absorbancia A4	1,347	0,078	0,078

Utilizando Factor teórico (37°C):
LDH (U/l) = 0,049 x 8095 = 396 U/l

Si se utiliza Laborcal como calibrador:
Concentración de LDH en el calibrador: 526 U/l (37°C)

	Calibrador	Diferencia	Promedio
Absorbancia A1	1,528		
Absorbancia A2	1,462	0,066	
Absorbancia A3	1,397	0,065	
Absorbancia A4	1,332	0,065	0,065

Obtención del factor de calibración:

Factor = $\frac{[LDH_{calibrador}]}{\Delta A/min_{calibrador}} = \frac{526 U/l}{0,065} = 8092$

LDH (U/l) = $\Delta A/min_{Muestra} \times Fator = 0,078 \times 8092 = 631 U/l$

Método de control de calidad

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (Laborcontrol 1 y Laborcontrol 2 de Laborlab) con actividades conocidas de lactato deshidrogenasa, con cada determinación.

Valores de referencia

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores (U/l)	120-240	160-320	230-460

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Conversion de unidades al sistema SI

LDH (U/l) x 0,017 = LDH (ukat/l)

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Absorbancia inicial baja: cuando una vez agregado el suero, la primera lectura (tiempo 0) es inferior a 0,800 D.O. estando el Reactivo B en condiciones, indica una muestra con muy alta actividad de LDH (que consume NADH aún antes de esta lectura). En este caso, repetir la determinación con muestra diluida 1/10 con solución fisiológica y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.

Performance

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	C.V.
439 U/l	± 3,64 U/l	0,8 %
919 U/l	± 11,41 U/l	1,2 %

b) Linealidad: el límite de linealidad es hasta 1000 U/l. Si la ΔA/min es superior a 0,120 D.O. (340-334 nm y 37°C), repetir la determinación con muestra diluida 1/5 ó 1/10 con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

c) Límite de cuantificación: la mínima actividad cuantificable de lactato deshidrogenasa es 24 U/l.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Presentación

2 x 48 mL Reactivo A
2 x 12 mL Reactivo B
(Cód. 1770210)

2 x 60 mL Reactivo A
2 x 15 mL Reactivo B
(Cód. 1779625)

Bibliografía

- Société Française de Biologie Clinique (SFBC) - Ann. Biol. Clin. 40:160, 1982.
- Sociedad Española de Química Clínica - Comité Científico, Comisión de Enzimas - Quim. Clin. 57-61, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / C  ustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP- Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br