

Instruções de Uso



LDH Cepa - Cinética UV

Método

Piruvato – Cinético UV

Finalidade

Kit para determinação da desidrogenase láctica em amostras de soro ou plasma.

Princípio do método

A desidrogenase láctica (LDH) catalisa a redução do piruvato pelo NADH, que é convertido em lactato, transformando o NADH em NAD. A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de extinção do NADH, medida espectrofotometricamente em 340 nm.

Reagentes fornecidos

- Tampão: Tris 100 mmol/L, piruvato 2,75 mmol/L e cloreto de sódio 222 mmol/L; pH 7,2 (1 x 40 mL).
- Coenzima: NADH 1,55 mmol/L, azida sódica 9,5 g/L. Não pipetar com a boca (1 x 10 mL).

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração na faixa de 2 a 8°C. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria
- Cronômetro
- Especrofotômetro
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis
- Vidraria

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Amostra biológica

- Soro ou plasma.

A LDH em soro ou plasma é estável durante 24 horas quando mantida entre 2 a

8°C. Utilizar apenas heparina como anticoagulante.

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de esgoto.

Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula.

Preparo dos reagentes:

Verter o conteúdo do frasco de Reagente nº 2 (Coenzima) no frasco de Reagente nº 1(Tampão) e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco de reagente nº 2, com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo. Após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco nº 1 e rotular como Reagente de Trabalho. Este reagente é estável, durante 2 meses quando mantido entre 2 a 8 °C.

Obs.: podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1 mL de Coenzima + 4 mL de Tampão.

Dosagem em soro ou plasma:

- Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
- Pré-aquecer o especrofotômetro e o reagente de trabalho a 37 °C;
- Acertar o zero do especrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada.
- Pipetar em uma cubeta termostatizada a 37°C como a seguir:

Método	Micro	Macro
Amostra	10µL	20 µL
Reagente de trabalho	0,5mL	1,0mL

- Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta cubetas termostatizado a 37 °C e acionar o cronômetro.
- Aos 30 segundos, determinar e registrar a absorbância inicial (A_0) em 340 nm; realizar novas leituras (A_1 , A_2 e A_3), em intervalos de 1 minuto durante 3 minutos;
- Comprovar que as diferenças entre as absorbâncias sejam sensivelmente iguais. Calcular a média das diferenças das absorbâncias ($\Delta A/min$), que será usada nos procedimentos de cálculo.

$$\text{DA / min} = \frac{((A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2))}{3}$$

Cálculos

Considerando que o coeficiente de absorção molar do NADH a 340 nm é 6.300, se deduzem as seguintes fórmulas para calcular a concentração catalítica:

- Desidrogenase láctica (U/L) = DA/min x 8095

Unidades SI: pkat/L = U/L X 0.0167

Linearidade

A reação é linear até 1250 U/L; para concentrações superiores,稀uir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição empregado.

Valores de referência

- Soro ou Plasma: 207 a 414 U/L*
- Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência.

Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação: 101,3%.

Coeficiente de variação intra-ensaio (repetitividade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 4,50%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 3,25%.

Coeficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 6,50%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 4,80%.

Especificidade analítica: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia enzimática no ultravioleta) demonstrou um coeficiente de correlação, igual a 0,991 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $y = 1,16 x + 13,8$.

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorbância em 340 nm igual a 0,000124 em cada acréscimo de 1U/L na concentração de LDH. O limite de detecção do método é igual a 40 U/L.

Interferentes

Hemólise ou separação tardia do soro ou plasma leva a resultados falsamente elevados, em função da elevada concentração de LDH nos eritrócitos.

Referências bibliográficas

ANN bio clin 1982; 40:87-164 - Recomendations pour la mesure de la concetration catalytique de lactate deshydrogenase dans le serum humain 30 °C.

Apresentação

Número de testes Macro: 50
Número de testes Micro: 100

Automação

Os reativos podem ser utilizados em analisadores automáticos. Vide programação no verso ou solicite informações ao seu distribuidor.

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda
Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120
Resp. Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

(31) 3507 0707

sac@mbiolog.com.br

<p>COBAS MIRA/ PLUS®</p> <p>GENERAL</p> <p>MEASUREMENT MODE ABSORB</p> <p>REACTION MODE R-S - 1</p> <p>CALIBRATION MODE FACTOR - 2</p> <p>REAGENT BLANK REAG/DIL - 2</p> <p>CLEANER NO - 1</p> <p>WAVELENGTH 340 nm - 1</p> <p>DECIMAL POSITION 0 (U/L)</p> <p>UNIT 21 (U/L)</p> <p>ANALYSIS</p> <p>POST. DIL FACTOR 5</p> <p>CONC. FACTOR NO - SPACE</p> <p>SAMPLE CYCLE 1</p> <p>VOLUME 5 µL</p> <p>DILUTION NAME H2O - 0</p> <p>VOLUME 10 µL</p> <p>REAGENT CYCLE 1</p> <p>VOLUME 150 µL</p> <p>CALCULATION</p> <p>SAMPLE LIMIT NO - SPACE</p> <p>REACTION DIRECTION DECREASE - 2</p> <p>CHECK ON - 1</p> <p>CONVERSION FACTOR 1</p> <p>OFFSET / TEST RANGE 0 / 0</p> <p>HIGH 1500 U/L</p> <p>NORMAL RANGE LOW 207</p> <p>HIGH 414</p> <p>NUMBER OF STEPS 1</p> <p>CALCULATION STEP A KINSEARCH - 3</p> <p>READING FIRST 1</p> <p>LAST 7</p> <p>CALIBRATION</p> <p>CALIBRATION INTERVAL ON REQUEST - 3</p> <p>TIME NO - SPACE</p> <p>REAGENTE RANGE LOW NO - SPACE</p> <p>HIGH NO - SPACE</p> <p>BLANK RANGE LOW -0,20 ÅA</p> <p>HIGH 0,20 ÅA</p> <p>FACTOR</p> <p><i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i></p>	<p>EXPRESS 550/PLUS®</p> <p>TEST NAME: LDH TEST: LDH</p> <p>TEST BAR CODE: IPU*</p> <p>TEST TYPE: KINETIC CURVE TYPE: BLANK. LINEAR</p> <p>UNITS: U/L N° OF DECIMAL PLACE: 0</p> <p>PRIMARY WAVELENGTH: 340 SECONDARY WAVELENGTH: -</p> <p>READ TIME / INTERVAL:30 SAMPLE BLANK: NO</p> <p>FACTOR: - 9683</p> <p>CALIBRATION INTERVAL: 180 h N° OF REPLICATES: 2</p> <p>N° OF CALIBRATOR: IPU*</p> <p>LOW BLANK A LIMIT: -0,100 HIGH BLANK A LIMIT: 2,000</p> <p>LOW A LIMIT: -0,100 HIGH A LIMIT: 2,000</p> <p>LOW NORMAL: 207 HIGH NORMAL: 414</p> <p>LINEARITY LIMIT: 1500 CURVE S.D. LIMIT: 10</p> <p>SAMPLE VOLUME: 7 µL TEST: LDH</p> <p>SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: PREDILUTION RATIO: 1</p> <p>RERUN DIL. RATIO : 2 REAGENT DILUENTE BOTTLE*</p> <p>REAGENT DILUENT: VOL. RAG. BD DIL LAG TIME BT</p> <p>REAGENT 1: 300 60 *</p> <p>IPU: Inserido Pelo Usuário</p> <p>*: Entre com o tipo de frasco utilizado. Plástico ou Vidro</p> <p><i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i></p>	<p>RA-50®</p> <p>TEMPERATURA 37 °C</p> <p>VOLUME DA AMOSTRA 20 µL</p> <p>VOLUME DO REAGENTE 1000 µL</p> <p>FATOR 8095</p> <p>TIPO DE REAÇÃO CINÉTICA</p> <p>UNIDADES U/L</p> <p>COMPRIMENTO DE ONDA 340 nm</p> <p>INTERVALO DE TEMPO 60</p> <p>ESTABILIZAÇÃO 30</p> <p>NÚMERO DE LEITURAS 3</p> <p>INCLINAÇÃO DA REAÇÃO DECRESCENTE</p> <p>ABS. MIN INICIAL 1</p> <p>LINEARIDADE 1250 U/L</p> <p>PRECISÃO DO RESULTADO 1 U/L</p> <p>VOLUME DE ASPIRAÇÃO 800 µL</p> <p><i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i></p>	<p>BTS-310®</p> <p>NOMBRE TECNICA LDH</p> <p>UNIDADES 4</p> <p>MODO DE CÁLCULO CDF</p> <p>MODO DE LECTURA -</p> <p>FILTRO REFERENCIA -</p> <p>FILTRO LECTURA 340</p> <p>FATOR</p> <p>TIEMPO ESTBILIDAD 1</p> <p>TIEMPO INCUBACION 30</p> <p>TIEMPO INTERVALO 60</p> <p>NÚMERO DE INTERVALOS 3</p> <p>VOLUME DE ASPIRACAO 400</p> <p>TIPO DE REACION Decrescente</p> <p>ESTANDAR / N° ESTANDARTES -</p> <p>DUP. ESTANDARTES -</p> <p>DUP. MUESTRAS -</p> <p>ESCALAS ABS / CON. -</p> <p>FACTOR DILUCION -</p> <p>TEMPERATURA 37°C</p> <p><i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i></p>
<p>BIO2000® & LABQUEST®</p> <p>MODO CIN INT. CIN 60</p> <p>WLI 340 N° DE INTERV 3</p> <p>WL2 ÄA LIMIT</p> <p>TEMP? 37°C % LIM LIN 20</p> <p>VOL ASP 800 DIR DEC</p> <p>RETARDO 30 ABS REAT MIN 0</p> <p>FATOR ABS REAT MIN 1,8</p> <p>UNDIDAD U/L VR/VN MIN 207</p> <p>DECIMALS 0 VR/VN MAX 414</p> <p>IMPRESSÃO EXT</p> <p><i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i></p>	<p>RA-100®</p> <p>TEST N° / TEST NAME LDH</p> <p>UNITS U/L</p> <p>LOW NORMAL 207</p> <p>HIGH NORMAL 414</p> <p>FACTOR</p> <p>STAND. CON -</p> <p>TYPE 2</p> <p>WAVELENGTH 340</p> <p>SAMPLE VOLUME 6</p> <p>SAMPLE PRIME VOL. 2,5</p> <p>SAMPLE FLUSH VOL. 250</p> <p>REAGENT. VOL. 300</p> <p>REAG. PRIME VOL. 12,5</p> <p>REAG. FLUSH VOL. 450</p> <p>INCUBATION TIME 35</p> <p>READ TIME 140</p> <p>REAG. ABS LOW 0,8</p> <p>REAG. ABS HIGH 1,8</p> <p>REACT. ABS LOW 0,05</p> <p>REACT. ABS HIGH 1,8</p> <p>MAX LIN RSLT 0,16</p> <p>TEMPERATURA 37 °C</p> <p>IPU* Inserido Pelo Usuário</p> <p><i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i></p>	<p>ABBOT VP®</p> <p>NAME INDEX – TES NAME 15 (LDH)</p> <p>TEMPERATURE 37°C</p> <p>FILTER ID CODE 43 (340/380)</p> <p>UNITS 07 (U/L)</p> <p>DILUTION 1: 101 (1:101)</p> <p>REV. TIME 2</p> <p>AUX. DISP. NO</p> <p>FRR YES</p> <p>REACTION UP NO</p> <p>STANDARDS NO</p> <p>REAG. BLANK NO</p> <p>ASSAY FACTOR NO</p> <p>END. POINT NO</p> <p>BGN PRT REVOLUTION 3</p> <p>PRT REVOLUTION 1</p> <p>INITIAL REAG. AD 0,5</p> <p>UP LIMIT NO</p> <p>MAX ABS. LIMIT 3</p> <p>SUBSTRAT DEPLECTION 0,3</p> <p>REAGENT DEGRADATION 50</p> <p><i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i></p>	

Todos os equipamentos são marcas registradas de seus fabricantes