

Kit para determinação da Desidrogenase Láctica em amostra de soro ou plasma.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

Significado Clínico

A desidrogenase láctica (LDH) cataliza a conversão do lactato em piruvato. É liberado quando ocorre dano celular, como hipoxia e necrose. A ampla distribuição dessa enzima entre os tecidos faz com que ela seja um indicador pouco específico de doença. Pode estar aumentado em casos de neoplasias, doença cardiorrespiratória, anemia hemolítica e megaloblástica, mononucleose infecciosa, hipotireoidismo, infartos pulmonares, pneumocistose, doenças hepáticas e síndrome coronariana aguda¹.

Metodologia e princípio do teste

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.



Composição dos reagentes

R1 Tampão: Tris 100 mmol/L, piruvato 2,75 mmol/L e cloreto de sódio 222 mmol/L; pH 7,2; **R2 Coenzima:** NADH 1,55 mmol/L, azida sódica 9,5 g/L. **Não pipetar com a boca.**

Apresentações

Código	R1	R2	Testes	
			Macro	Micro
0022	1x40 mL	1x 10 mL	50	100

O número de testes em equipamentos automatizados dependerá do protocolo de automação utilizado.

Materiais necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada;
- Banho maria;
- Cronômetro;

- Espectrofômetro;
- Pipetas manuais ou automáticas;
- Ponteiras descartáveis;
- Vidraria.

Precauções e cuidados especiais

- 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.

Armazenamento, transporte e validade

Armazenar os reagentes entre 2-8°C em sua embalagem original.

Os produtos poderão ser transportados, por até 48 horas, entre 2-30°C. A data de validade se encontra no rótulo do produto.

Amostra biológica

Soro/plasma

O analito é estável por 24 horas entre 2 a 8 °C. Utilizar heparina como anticoagulante.

Nota

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.

Interferentes pré-analíticos²

A hemólise ou uma tardia separação do soro ocasionam resultados elevados. Outras substâncias podem interferir.

Preparo do reagente

Verter o conteúdo do frasco **R2** no frasco **R1** e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco **R2**, com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo. Após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco **R1**. Rotular como Reagente de Trabalho. Este reagente é estável, sob refrigeração, na faixa de 2 a 8°C, durante 2 meses, se mantido fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Nota

Podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1mL do **R2** + 4mL do **R1**.

Procedimento

Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente.

Passo 1 Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

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

Passo 2 Acertar o zero do espectrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada;

Passo 3 Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta cubetas termostatizado a 37°C;

Passo 4 Ler e registrar a absorbância inicial (A0), em 340 nm, aos 30 segundos;

Passo 5 Realizar novas leituras (A1, A2 e A3), em intervalos de 1 minuto durante 3 minutos;

Passo 6 Comprovar que as diferenças entre as absorbâncias sejam sensivelmente iguais;

Passo 7 Calcular a média das diferenças das absorbâncias ($\Delta A/\text{min.}$), que será usada nos procedimentos de cálculo.

$$\Delta A/\text{min.} = \frac{(A1-A0)+(A2-A1)+(A3-A2)}{3}$$

Cálculos

Considerando que o coeficiente de absorção molar do NADH é 6300 em 340 nm, se deduzem as seguintes fórmulas para calcular a concentração catalítica a 37°C:

$$\Delta A/\text{min.} \times 6508 = \text{U/L} \quad \Delta A/\text{min.} \times 108 = \mu\text{kat/L}$$

Valores de referência

Soro/Plasma (37 °C - U/L)

Adultos	132 – 228
Pediátricos	
0-4 dias	290 - 775
4-10 dias	545 - 2000
10 dias – 2 anos	180 - 430
2 – 12 anos	110 - 295

* 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. Preferencialmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Características de desempenho do produto⁷

Sensibilidade analítica: A sensibilidade do método é de 6,2 U/L (0,103 $\mu\text{kat/L}$).

Limite de Linearidade: Os resultados são lineares até 1000 U/L (16,67 $\mu\text{kat/L}$). Para valores maiores que 1000 mg/dL, diluir a amostra 1:2 com água destilada e repetir o ensaio. Multiplicar o resultado encontrado pelo fator de diluição dois (2).

Estudos comparativos: Este produto não apresentou variação sistêmica significativa quando comparado com produtos de mesma metodologia.

Repetitividade e Reprodutibilidade:

Repetitividade	Concentração média	n	CV%
	164 U/L	20	0,9
	258 U/L	20	0,7
Reprodutibilidade	Concentração média	n	CV%
	5 mg/dL	25	1,4
	8 mg/dL	25	1,3

Termo de garantia

A MBiolog Diagnósticos Ltda garante o desempenho deste produto até a data de expiração indicada no rótulo, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções de uso forem seguidas corretamente.

Meio ambiente

As caixas e bulas podem ser encaminhados para coleta seletiva e reciclados, desde que não contenha contaminações químicas e/ou biológicas. Preserve o meio ambiente.

Referências

1. Xavier, Ricardo M. Laboratório na prática clínica. Porto Alegre. Editora Artmed, 2005.
2. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980; 26:227-231.
3. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 3nd ed. Saunders Co, 1999.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. Lima A et al., 1992. Métodos de Laboratório aplicado a clínica. 7° Ed. Editora Guanabara.

7. Miller, O e Gonçalves, R., 1995. Laboratório para o Clínico. 8° Ed. Editora ATHENEU
8. MBiolog: Arquivos 2010

SAC – SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE

(31) 3507 0707

sac@mbiolog.com.br

REV.: 03 – 03/05/2011

Fabricado por: MBiolog Diagnósticos Ltda
Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG
CEP: 32.372-120 - CNPJ: 03.590.360/0001 – 89
Resp. Técnico: Fabrício G de Brito CRF-MG 9587
Empresa Certificada: BPFC - ISO 9001
RMS: 80047580125