



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Dez/24)

DESIDROGENASE LÁTICA

Método Cinético UV

FINALIDADE

O conjunto é um sistema que se destina à determinação da Desidrogenase Láctica no soro ou plasma humano. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO DE AÇÃO

A determinação da Desidrogenase láctica (LDH) através de método cinético no ultravioleta com o emprego do sistema Piruvato/NADH2 constituiu-se em método de escolha, sendo inclusive recomendado pela Associação de Química Clínica da Alemanha (DGKC). No presente método, baseado na DGKC, o piruvato é convertido pela LDH em lactato, transformando o NADH2 em NAD. A velocidade de diminuição da absorvância em 340 nm é proporcional à atividade desidrogenásica presente.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A Desidrogenase láctica é uma enzima intracelular que catalisa a oxidação do L-lactato a piruvato, existindo cinco isoenzimas. Ela é amplamente distribuída em todas as células do organismo, predominando no miocárdio, no rim, no fígado, nas hemácias e nos músculos. Assim, qualquer processo que resulte em intensa destruição celular, em um tecido ou órgão poderá aumentar os níveis séricos desta enzima, tais como; neoplasias primárias ou secundárias, doenças cardiorrespiratórias hipoxêmicas, anemias hemolíticas e megaloblásticas, leucemias, linfomas, hemoglobinopatias, mononucleose infecciosa, em alguns casos de hipotireoidismo, infarto agudo do miocárdio (em conjunto com outras enzimas como TGO, CPK, CK-MB constitui um marcador de diagnóstico, a LDH se eleva após 12 horas do IAM, seu pico é alcançado em 48 horas e usualmente retorna para níveis normais depois da CK e TGO; apresenta sensibilidade de 87% e especificidade de 88% no diagnóstico de IAM), insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência coronariana, choque, hipotensão, infarto pulmonar, doenças pulmonares, doenças musculares, hepatites agudas (geralmente menos elevada que as transaminases), na cirrose (usualmente não está muito elevada), alcoolismo crônico (usualmente elevada em combinação com VCM, triglicerídeos, fosfatase alcalina, TGO, TGP, GGT, bilirrubinas e folato), icterícias obstrutivas, pancreatite aguda, infarto renal, convulsões, doenças do sistema nervoso central, hemorragia subaracnoideia, doenças do colágeno, meningites, processos inflamatórios, fraturas, traumas, lesão muscular, distrofia muscular, necrose tecidual, obstrução intestinal e hipertermia.

Aumento dos níveis séricos de desidrogenase láctica é observado em cerca de um terço dos pacientes com doenças renais, especialmente aqueles com necrose tubular e pielonefrite. Entretanto, estas elevações não se encontram correlacionadas com proteinúria ou outros parâmetros de avaliação da função renal.

REAGENTES

Apresentação com 100 mL:

- Tampão:** 01 frasco com 80 mL, de solução tampão TRIS 100 mmol/L em pH 7,5, contendo piruvato de sódio 0,6 mmol/L e azida sódica 15,5 mmol/L. Conservar entre 2 - 8°C.
- Coenzima:** 01 frasco de 20 mL, de solução aquosa de NADH 0,25 mmol/L e azida sódica 15,5 mmol/L. Conservar entre 2 - 8°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro
Centrífuga
Banho-maria
Cronômetro
Vidraria
Pipetas manuais ou automáticas
Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C. Não congelar. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperaturas na faixa de 15 - 25°C, até um limite de 48 horas.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
- O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, ser calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
- Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.
- Os reagentes **1 e 2** contém azida sódica, irritante para pele e mucosas.
- Caso haja contato com esse reagente, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão.

- Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.
- Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
- Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
- As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
- Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro ou Plasma (heparina ou EDTA).

Separar o soro ou plasma até 1 hora após a coleta. A LDH no soro ou plasma é estável por 3 dias entre 2-8°C.

PROCEDIMENTO

Preparo do Reagente de Trabalho: Adicionar **4 (quatro) partes** do conteúdo do frasco de **Tampão (1)** com **1 (uma) parte** do conteúdo do frasco de **Coenzima (2)** e homogeneizar bem. Este reagente é estável por 30 dias, se mantido fora da geladeira apenas o tempo necessário para as dosagens e ao abrigo da luz.

Dosagem (soro ou plasma heparinizado):

Condições para os testes	
Temperatura de trabalho	37°C ± 0,5 °C
Comprimento de onda	340 nm

- Pré-aquecer o Reagente de Trabalho durante 5 minutos a 37°C.
- Acertar o zero do aparelho com água destilada.
- Pipetar em um tubo de ensaio:

Volume	
Reagente de Trabalho	1,0 mL
Amostras	0,02 mL

- Homogeneizar e transferir para uma cubeta termostatizada a 37°C. Acionar o cronômetro.
- Após 60 segundos, anotar a absorvância inicial A_0 e efetuar novas leituras após 1,2,3 minutos (A_1 , A_2 e A_3 respectivamente). A média das diferenças entre as leituras, ΔA média, será usada nos cálculos abaixo.

CÁLCULOS

Desidrogenase Láctica (U/L) - 340 nm = ΔA médio x **8095**

Exemplo:

Abs. inicial = 1,750; A1 = 1,730; A2 = 1,708; A3 = 1,687.

$\Delta A1 = 0,020$; $\Delta A2 = 0,022$; $\Delta A3 = 0,021$. **ΔA médio = 0,021**

LDH (U/L) = $0,021 \times 8095$

LDH (U/L) = 170

VALORES DE REFERÊNCIA

150 - 500 U/L

LINEARIDADE

A reação é linear 8 a 1.500 U/L. Para valores de **ΔA médio** acima de 0,200, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 99%

Exatidão: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia enzimática no ultravioleta) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,99 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $y = 0,99x + 2,41$, que representa uma exatidão de 99%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	670
Desvio Padrão	38,1
Coefficiente de Variação (%)	5,7

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	695
Desvio Padrão	36,4
Coefficiente de Variação (%)	5,2

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorbância em 340 nm igual a 0,000124 em cada acréscimo de 1 U/L na concentração de LDH. O limite de detecção do método é igual a 8 U/L.

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

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.

INTERFERENTES

Resultados falsamente elevados: Níveis elevados de plaquetas, hemólise. Hemoglobina < 500 mg/dL; Bilirrubina < 40 mg/dL e Lípidos < 1000 mg/dL **não interferem** nos resultados.

Nota: Deficiência da vitamina B12 causa a destruição dos precursores do eritrócito na medula óssea (eritropoiese ineficaz), resultando no aumento da LDH em até 50 vezes o limite de referência superior. Esta elevação retorna rapidamente a valores normais após tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bergmeyer, H.U (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press, p.118, 1985.
- Deutsche Gessellschaft fur Klinische Chemie - Z. Klin.Chem. 10:281, 1972.
- Witt, I. & T rendelenburg, C. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 20: 235,1982
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3 ed. W.B. Saunders Company. 1995.
- Wallach J. Interpretation of Diagnostic Tests. 2 ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2000.
- Katal: Dados de arquivo

APRESENTAÇÃO

100 mL	Volume
1. Tampão	1 x 80 mL
2. Coenzima	1 x 20 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas às seguintes condições:

- A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- As condições de armazenamento devem estar de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407

e-mail: sac@katal.com.br



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG - Brasil - CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga - CRBio 076936/04-D

ANVISA: 10377390193

Data da última revisão: 17/12/2024

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote