

## Utilização prevista

Para a determinação cinética quantitativa *in vitro* da atividade de desidrogenase láctica no soro utilizando o analisador Yumizen C560. **Rx Only.**

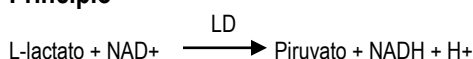
## Relevância clínica

Níveis aumentados de LD estão associados a enfarte do miocárdio. Os níveis atingem o seu máximo aproximadamente 48 horas após o início de dor e persistem durante cerca de dez dias. O grau de elevação é útil para avaliar a extensão dos danos e para desenvolver um prognóstico. São também observadas elevações de LD em doença hepática, anemia perniciosa, em alguns casos de doença renal e em alguns casos de trauma musculoesquelético.<sup>1</sup>

## História dos métodos

Wroblewski e Ladue<sup>2</sup> publicaram o primeiro método cinético UV para a determinação da atividade de LDH no soro em 1955. O seu método era baseado no ensaio clássico de Kubowitz e Ott<sup>3</sup> (1943) utilizando a reação de piruvato em lactato. Em 1956, Wacker et al<sup>4</sup> descreveram um procedimento que seguiu uma reação de lactato em piruvato. A reação de lactato em piruvato passou a ser a reação preferida<sup>5</sup>, embora fosse a mais lenta das duas, por ter um intervalo linear mais amplo<sup>6</sup> e pelo facto de não necessitar de qualquer requisito de pré-incubação<sup>7</sup>. O presente método segue a reação prévia e foi otimizado para uma maior sensibilidade e linearidade, tal como referido por Gay et al.<sup>8</sup>

## Princípio



A desidrogenase láctica catalisa a oxidação do lactato em piruvato com redução simultânea de NAD para NADH. A taxa de redução de NAD pode ser medida como um aumento da absorvância a 340 nm. Esta taxa é diretamente proporcional à atividade de LD no soro.

## Composição do reagente

Depois de combinar R1 e R2, o reagente contém: NAD 5,8 mM, L-lactato 55 mM, tampão pH 8,95. Estabilizadores não reativos e azida de sódio (0,1%) como conservante.

## Preparação dos reagentes

Os reagentes são fornecidos sob a forma de líquidos prontos a utilizar.

## Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Os reagentes mantêm-se estáveis até à data de validade, quando armazenados conforme as instruções. Proteger da luz. Evitar a contaminação microbiana. Estudos do fabricante demonstraram que o reagente mantém-se estável durante 30 dias uma vez colocado no carrossel de reagentes refrigerados (2-10°C), no entanto, a estabilidade dos reagentes pode variar com base nas condições laboratoriais individuais.

## Precauções e perigos

1. Este reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. Todas as amostras e controlos devem ser manuseados de acordo com as boas práticas laboratoriais, utilizando as precauções adequadas conforme descrito no Manual da CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2.ª ed., 1988, N.º de publicação do HHS (CDC) 88-8395.
3. Os reagentes contêm azida de sódio (0,1%) como conservante. Não ingerir. Evitar o contacto com a pele e com os olhos. A azida de sódio pode reagir com canalização de chumbo e cobre, originando azidas de metal explosivas. Escoe com água abundante ao eliminar o reagente.

## Perigos:

**R1 e R2:** Classificações de perigo: Não é uma substância ou mistura perigosa.

Pictograma: Não é necessária.

Palavra-sinal: Não é necessária.

Advertências de perigo: Não é uma substância ou mistura perigosa.

Recomendações de prudência: Não é uma substância ou mistura perigosa.

**Consulte a Ficha de Dados de Segurança deste produto (SDS-L7572), disponível através do número de telefone 1-734-487-8300.**

## Colheita e armazenamento de amostras

1. Recomenda-se a utilização de soro não hemolisado. Os glóbulos vermelhos contêm concentrações elevadas de LD.<sup>5</sup>
2. O soro deve ser removido do coágulo rapidamente.
3. As amostras devem ser analisadas logo após a colheita. A LD no soro mantém-se estável durante dois a três dias à temperatura ambiente.<sup>9</sup>
4. Não congele nem exponha o soro a temperaturas elevadas (37°C), pois tal pode inativar as isoenzimas de LD termolábeis.<sup>10</sup>
5. A colheita de amostras deve ser realizada de acordo com o documento NCCLS M29-T2.<sup>11</sup> Nenhum método pode oferecer garantias absolutas de que as amostras de sangue humano não transmitirão infeções. Por conseguinte, todas as amostras devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

## Interferências

1. Determinados medicamentos e substâncias afetam a atividade da LD. Consulte Young, et al.<sup>12</sup>
2. Verificou-se que a bilirrubina até ao nível de 20 mg/dL apresenta uma interferência negligenciável ( $\leq 5\%$ ) neste ensaio.
3. Demonstrou-se que a hemólise interfere significativamente no ensaio, mesmo em níveis baixos como 100 mg/dL.

## Materiais fornecidos

Reagente (R1) de tampão de desidrogenase láctica  
Reagente (R2) coenzimático de desidrogenase láctica

# Conjunto de Reagentes de Desidrogenase Láctica Pointe

## Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Analisador Yumizen C560
2. Manual de utilização do Yumizen C560
3. Controlo de química, número de catálogo C7592-100

## Limitações

1. O soro hemolisado causa níveis séricos de LD erradamente elevados.
2. As amostras que excedem o limite de linearidade (1000 U/L) devem ser diluídas com um volume igual de solução salina e novamente submetidas a ensaio. Multiplique os resultados por dois para compensar a diluição.

## Calibração

O procedimento é padronizado através da capacidade de absorção milimolar do NADH considerada como 6,22 a 340 nm nas condições de teste descritas.

## Controlo da qualidade

A validade da reação deve ser monitorizada utilizando amostras de controlo com valores de LD normais e anormais conhecidos. Estes controlos devem ser efetuados, pelo menos, em cada turno de trabalho em que sejam realizados ensaios de LD. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser executados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

## Valores esperados<sup>5</sup>

Sexo masculino 50-166 U/L (30°C) 80-285 U/L (37°C)  
Sexo feminino 60-132 U/L (30°C) 103-227 U/L (37°C)

Devido a uma ampla variedade de condições (alimentares, geográficas, etárias, etc.) que afetam os intervalos de referência, recomenda-se que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de referência.

## Desempenho

1. Intervalo do ensaio: 2-1000 U/L. As amostras que excedem 1000 U/L devem ser diluídas com um volume igual de solução salina, novamente submetidas a ensaio e os resultados devem ser multiplicados por dois.
2. Correlação: Foi realizado um estudo entre o Yumizen C560 e um analisador semelhante utilizando este método, com os seguintes resultados:

Método	LDH
N	80
LDH média (U/L)	223,4
Intervalo (U/L)	88-866
Desvio padrão	153,8
Análise de regressão	$y = 0,964x - 8,1$
Coefficiente de correlação	0,9995

3. Precisão: Foram realizados estudos de precisão na sequência de uma modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.<sup>12</sup>

Amostra	No mesmo dia			Entre dias		
	LOW	MID	HIGH	LOW	MID	HIGH
N	20	20	20	40	40	40
Média	111,1	349,1	628,3	123,6	381,4	696,5
Desvio padrão	1,4	2,8	3,4	1,6	5,2	9,6
Coefficiente de variação (%)	1,3%	0,8%	0,5%	1,3%	1,4%	1,4%

4. Sensibilidade: Limite de deteção de 2 DP (95% de Int Conf): 2 U/L

## Bibliografia

1. Tietz, N.W., editor, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3<sup>rd</sup> Ed., W.B. Saunders Co., 391 (1987).
2. Wroblewski, F., LaDue, J.S., Proc. Soc. Data Biol. Med. 90:210 (1955).
3. Kubowitz, F., Ott, P., Biochem. 314:94 (1943).
4. Wacker, W.E.C., et al, N. Engl. J. Med. 255:449 (1956).
5. Henry, R.J. et al, Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2<sup>nd</sup> Ed., Hagerstown (MD) Harper & Row, pp. 819-831. (1974).
6. Amador, E., et al, Clin. Chem. 9:391 (1963).
7. Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289 (1977).
8. Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Ed., W.B. Saunders Co., 657 (1976).
9. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Ed., W.B. Saunders Co., 657,(1976).
10. Kreutzer, H.H., et al, Clin. Chim. Acta 9:64 (1964).
11. NCCLS Document M29-T2, 2<sup>nd</sup> Ed. (1991).
12. Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D (1975).
13. NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

**PARÂMETROS DE QUÍMICA**

Quím:	LDH	N.º:	223	Tipo de amostra:	Soro
Química:	Desidrogenase Láctica			Nome em letra de imprensa:	LDH
Tipo de reação:	Cinética			Direção de reação:	Positiva
Onda pri:	340			Onda sec:	412
Unidade:	U/L			Decimal	0
Tempo de branco:	0      0			Tempo de reação:	56      71
	Vol. amostra	Aspirado	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Padrão:	7,3 uL	--- uL	--- uL	R1: 120 uL	--- uL
Diminuído:	--- uL	--- uL	--- uL	R2: 30 uL	-- uL
Aumentado:	--- uL	--- uL	--- uL	R3: --- uL	-- uL
	<input type="checkbox"/> Branco da amostra	<input checked="" type="checkbox"/> Repetição automática		R4: --- uL	--- uL
<b><u>Ajuste de declive/desvio</u></b>					
Declive: 1		Desvio: 0			

Intervalo de linearidade (padrão)	2	1000	Limite de linearidade:	0,3
Intervalo de linearidade (diminuído)	---	---	Redução de substrato:	25000
Intervalo de linearidade (aumentado)	---	---	Abs de branco misturado:	
Abs de branco R1:	---	---	Tempo para destapar	
Resposta de branco:	---	---	Limite de alarme do reagente:	
Química dupla:			<input type="checkbox"/> Extensão linear da enzima	
<input type="checkbox"/> Verificação prozona		<input type="radio"/> Verificação de taxa	<input type="radio"/> Adição de antígeno	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

# Conjunto de Reagentes de Desidrogenase Láctica Pointe

## PARÂMETROS DE CALIBRAÇÃO

<b>Definição do calibrador</b>						
Calibrador:	*	N.º do lote:			*	
Data de validade:	*					
<b>Carrossel</b>		<b>Pos</b>				
Carrossel de amostras 1	*					
Carrossel de amostras 2						
Carrossel de amostras 3						
<b>Reagente/Calibração</b>						
<u>Calibrador</u>	<u>Pos</u>	<u>N.º do lote</u>	<u>Data de validade</u>	<u>Quím</u>	<u>Conc</u>	<u>Unidade</u>
Água	A	*	*	LDH	0	U/L
<b>Configuração da calibração</b>						
Quím:	LDH					
<u>Definições da calibração</u>						
Modelo matemático: Fator K						
Fator:	3505	Réplicas:	1			
<u>Limites de aceitação</u>						
Tempo cal:	24	Hora				
Dif declive:	---	DP:	---			
Sensibilidade:	---	Repetibilidade:	---			
Deter coef:	---					
<u>Calib. auto.</u>						
<input type="checkbox"/> Frasco trocado	<input type="checkbox"/> Lote trocado	<input type="checkbox"/> Tempo cal				

Recomenda-se que dois níveis de material de controlo sejam submetidos a ensaio diariamente.

\* Indica parâmetros definidos pelo utilizador.

### Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.

**REF** 14-L7572-200



Fabricado por  
HORIBA Instruments Incorporated-Pointe Brand  
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeu Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net



### Legenda dos símbolos



Utilizar até (AAAA-MM-DD)



Lote e código



Número de catálogo



Fabricante



Limite de temperatura



Consulte as instruções de utilização



Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

**Rx Only:** Utilização apenas mediante receita médica