

REF 10215-4 4 x 29 mL / 8 mL

LACTATO DESIDROGENASE (LDH)

Os frascos em forma de cunha contêm volumes úteis de 29 mL do reagente R1 e 8 mL do reagente R2.

INDICAÇÃO DE USO

O reagente para LDH EasyRA é destinado à determinação quantitativa da atividade da lactato desidrogenase (LDH) no soro e plasma humanos (com a heparina de lítio como anticoagulante), usando o Analisador Químico Clínico EasyRA® MEDICA.

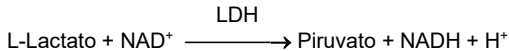
Para uso somente em diagnósticos *in vitro*. Somente para uso profissional.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A Lactato Desidrogenase é uma combinação de isoenzimas cujos níveis são aumentados por infartos do miocárdio, doenças do fígado e dos rins, anemias megaloblásticas e distrofia muscular avançada.¹ É possível identificar um caso de infarto do miocárdio agudo com base na análise combinada de níveis de LDH e de Creatina Quinase.²

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O procedimento de análise enzimática baseia-se no trabalho de Wacker³ e aperfeiçoamento de Buhl and Jackson.⁴ A LDH catalisa a oxidação do lactato em piruvato e a redução subsequente do NAD em NADH conforme descrito a seguir:



A taxa de formação de NADH (medida por sua absorbância a 340 nm) é proporcional à atividade da Lactato Desidrogenase na amostra.

REAGENTES

Reagente Tampão para LDH (R1):

| | |
|--|------------|
| Lactato L-Lítio | 100 mmol/L |
| 2-Metil-2-Amino-1-Propanol (pH 8,8) | 600 mmol/L |

Reagente Substrato de LDH (R2):

| | |
|-----|----------|
| NAD | 6 mmol/L |
|-----|----------|

PRECAUÇÕES

1. As boas práticas de segurança em laboratórios devem ser seguidas para o manuseio de qualquer reagente (CLSI, GP17-A2).
2. Os reagentes contêm menos de 0,1% de azida de sódio, que pode reagir com tubulações de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Consulte a Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico para informações sobre riscos e medidas de segurança.
3. Como para qualquer procedimento de teste de diagnóstico, os resultados devem ser interpretados considerando-se os resultados de outros testes e o estado clínico do paciente.
4. Não utilize cubetas lavadas.

INSTRUÇÕES DE MANUSEIO, ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DO REAGENTE

O reagente é fornecido pronto para o uso. O reagente permanecerá estável em frasco fechado até a data de validade informada no rótulo desde que armazenado a 2 – 8 °C. O reagente permanece estável a bordo na área refrigerada de reagentes do Analisador EasyRA pelo número de dias programado no chip RFID encontrado no frasco. Não utilize o reagente se estiver turvo ou opaco ou se os valores conhecidos para controle de soro não forem obtidos.

COLETA E ARMAZENAGEM/ESTABILIDADE DA AMOSTRA

Soro ou plasma não hemolisados e límpidos devem ser utilizados. Tubos revestidos com heparina de lítio podem ser usados na coleta de plasma. Centrifugue e remova o soro assim que possível após a coleta, pois a hemólise faz com que os eritrócitos liberem grandes quantidades de LDH. A LDH permanece estável no soro por 3 dias a 2 – 8 °C. As amostras congeladas apresentam redução dos valores de atividade da LDH.

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos

Frasco de Reagente para LDH Medica, REF 10215

Materiais adicionais necessários

Controle de Qualidade EasyCQ® Medica – Nível A – Química/Eletrólitos, REF 10793

Controle de Qualidade EasyCQ Medica – Nível B – Química/Eletrólitos, REF 10794

Frasco de Corante Medica para Teste de Precisão, REF 10764

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química e ISE, REF 10660 ou

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química, REF 10661

Instruções de uso

O reagente é fornecido pronto para o uso. Remova a tampa e coloque o reagente na bandeja do Analisador EasyRA, localizada na área reservada para reagentes. A estabilidade a bordo (60 dias no máximo) encontra-se programada no chip RFID do frasco do reagente.

Observação: Após remover a tampa e colocar o frasco no Analisador EasyRA, verifique se há espuma no interior dos gargalos do frasco. Se houver espuma, remova com um swab ou com uma pipeta descartável antes de executar o teste. Utilize swabs ou pipetas descartáveis separadas para R1 e R2.

Calibração

Não aplicável.

Controle de Qualidade

Recomenda-se a execução de dois níveis (normal e anormal) de controle baseado em soro humano junto com a análise diariamente, sempre que forem executados testes de paciente, e a cada troca de lote de reagente. A não obtenção de valores dentro do intervalo adequado a partir da análise do material de controle pode indicar deterioração do reagente, mau funcionamento do instrumento ou erros de procedimento. O laboratório deve seguir as diretrizes municipais, estaduais e federais de controle de qualidade ao usar materiais de controle de qualidade.

Resultados

Após concluir a análise, o Analisador EasyRA calcula a concentração de LDH a partir da alteração na absorbância por minuto, volume da amostra, volume total de reação, comprimento de trajetória (cm) de 0,6 e absorvidade molar de 6,22.

$$\text{LDH (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volumetotal}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absortivademolar} \times \text{Comp.trajetória}(\text{cm}) \times \text{Volumeda amostra}(\mu\text{l}))}$$

A unidade por litro (U/L) de atividade da LDH representa a quantidade de enzima que produz um $\mu\text{mol/L}$ de NADH por minuto.

Valores Esperados⁵

O intervalo de referência para LDH em soro e plasma é o seguinte:

Sexo Masculino: 80 – 285 U/L (37 °C)

Sexo Feminino: 103 – 227 U/L (37 °C)

Esses valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados, considerando-se as diferenças entre os instrumentos, as instalações laboratoriais e as populações locais.

Limitações do Procedimento (por exemplo, amostra ultrapassa o intervalo do exame)

Se a Alteração de Absorbância por Minuto ($\Delta A/\text{Min}$) for maior do que 0,1082, o que corresponde a aproximadamente 800 U/L, será sinalizada como “SD” (esgotamento de substrato) pelo analisador. Se o ícone de novo teste for selecionado pelo operador, a amostra poderá ser testada novamente usando metade (1/2) do volume da amostra. Os resultados do novo teste são calculados para refletir o uso de um volume menor da amostra. Isso irá estender o intervalo reportável do teste de LDH até 1600 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO⁶

Intervalo reportável

O intervalo reportável vai de 5 a 800 U/L. O intervalo estendido vai de 5 a 1600 U/L quando metade da amostra é usada (diluição 1:1).

Inexatidão/Correlação (CLSI, EP9-A2)

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação do desempenho do Reagente para LDH Medica (y) no Analisador EasyRA com o desempenho de um reagente para LDH similar (x) no Analisador COBAS MIRA* da Roche. Os dados mostrados abaixo representam determinações avulsas do Analisador EasyRA em comparação com a média entre dois valores replicados obtidos no Analisador COBAS MIRA.

| | | | |
|----------------------------|--------|-----------------------|----------------------|
| Número de amostras | 59 | Intervalo de amostras | 5 a 779 U/L |
| Declive | 0,99 | Intercepta y | 8,4 |
| Coefficiente de Correlação | 0,9980 | Equação de regressão | $Y = 0,99 * X + 8,4$ |

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação de amostras conjugadas de soro (x) e plasma (y), usando o reagente Medica para LDH em um Analisador EasyRA. Os dados abaixo representam uma determinação avulsa de plasma vs. a média de duas amostras replicadas de soro.

| | | | |
|----------------------------|--------|-----------------------|--------------------------|
| Número de amostras | 47 | Intervalo de amostras | 10 a 696 U/L |
| Declive | 0,9975 | Intercepta y | 2,825 |
| Coefficiente de Correlação | 0,9949 | Equação de regressão: | $Y = 0,9975 * X + 2,825$ |

*Cobas Mira é marca comercial registrada da Roche Diagnostics Operations, Inc, Indianapolis, IN

Imprecisão (CLSI, EP5-A2)

Medições duplicadas de cada um dos três níveis do material de CQ foram testadas duas vezes ao dia, por 20 dias. Tanto a precisão durante a rodada quanto a precisão total foram determinadas a partir desses dados.

Imprecisão em uma mesma rodada:

| Nível de CQ U/L | SD na Rodada U/L | CV na Rodada % |
|--------------------|---------------------|-------------------|
| 331,5 | 4,0 | 1,2 |
| 204,5 | 3,3 | 1,6 |
| 99,5 | 1,3 | 1,3 |

Imprecisão Total:

| Nível de CQ U/L | SD de Imprecisão Total U/L | CV de Imprecisão Total % |
|--------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 331,5 | 7,3 | 2,2 |
| 204,5 | 4,8 | 2,4 |
| 99,5 | 1,9 | 1,9 |

Linearidade (CLSI, EP6-A)

Linear de 5 a 800 U/L, com base na equação de regressão linear $Y = 1,017 * X + 14,48$.

Substâncias Interferentes (CLSI, EP7-A)

Interferência de até 10% foi classificada como "nenhuma interferência significativa".

Há interferência significativa de hemoglobina. Não utilize amostras hemolisadas.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 20 mg/dL de bilirrubina.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 2000 mg/dL de triglicérides (utilizando-se Intralipid*).

*Intralipid é uma marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornece uma lista de medicamentos e outras substâncias que podem interferir em testes clínicos químicos.^{7, 8}

REFERÊNCIAS

1. Kachmar JF, Moss DW in Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., NW Tietz, editor (W.B Saunders, Eds. Philadelphia USA) 1976: 652.
2. Roe CR et al., J Lab Clin Med 80:557 (1972).
3. Wacker WEC et al., New England J Med 255: 449 (1956).
4. Buhl SN, Jackson KY, Clin. Chem. 24:828 (1978).
5. Henry, RJ, Carman DC, and Winkelman JW. *Clinical Chemistry. Principles and Techniques*. Hagerstown, MD: Harper and Row. pp 819-831 (1974).
6. Dados arquivados na Medica.
7. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
8. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

Parâmetros de Análise do EasyRA (LDH)

| | |
|----------------------------------|----------------|
| Comprimento de Onda (nm) | 340 |
| Tipo de Reação | Enzimática (0) |
| Direção de Reação | Crescente |
| Branco de Reagente | Não |
| Branco de Amostra | Não |
| Alter. de Abs. máx. de 1º int. | 0,055 |
| Tempo de Reação | 4,4 min |
| Intervalo de calibração (máximo) | N/D |
| Estabilidade a bordo do reagente | 60 dias |

Soro ou plasma

| | |
|------------------------------|---|
| Volume de amostra (µl) | 7,0 |
| Volume de diluente (µl) | 20 |
| Volume de reagente (R1) (µl) | 132 |
| Volume de reagente (R2) (µl) | 34 |
| Casas Decimais (padrão) | 0 |
| Unidades (valores padrão) | U/L |
| Fator de Diluição | 1:1 (para extensão do intervalo de medição) |
| Linearidade | 5 a 800 U/L |
| Absortividade Molar | 6,22 |

