

LDH UV

Kit para determinação da desidrogenase láctica (LDH) por metodologia cinética- UV.

Ref.: 457

ANVISA 80022230084



blue
by labingá
BIOQUÍMICA CLÍNICA

FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da desidrogenase láctica (LDH) no soro por método cinético.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

MÉTODO

Piruvato - Lactato.

ESTABILIDADE

Conservar entre 2 a 8 °C.

Não congelar ou expor o produto a temperaturas elevadas.

Estabilidade em uso: Os reagentes são fornecidos prontos para uso, portanto são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.

Condições de armazenamento após abertura: conservar entre 2 a 8 °C.

Condições de armazenamento e estabilidade das soluções de trabalho: estável 1 dia entre 15 - 25 °C e 10 dias sob refrigeração.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

1. Presença de partículas e turbidez indicam deterioração dos reagentes.
2. A absorbância do Reagente de Trabalho em 340 nm deverá ser superior a 0,800 nm durante toda a sua utilização ou até a expiração da data de validade do mesmo.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Nas condições do ensaio, a LDH catalisa a conversão do piruvato para lactato, enquanto o NADH é oxidado para NAD⁺.

A atividade catalítica é determinada a partir da velocidade de desaparecimento do NADH medida em 340 nm.

Determina-se o decréscimo da absorbância em 340 nm, que é proporcional à atividade de LDH na amostra analisada.



QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética contínua em ultravioleta facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, possibilitando o preparo do volume de Reagente de Trabalho de acordo com a demanda do laboratório.
- Emprega o piruvato como substrato, que apresenta boa estabilidade e proporciona maior velocidade de reação.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E LIMITAÇÕES DE USO

1. **Coenzima** - Contém NADH 0,36 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.
2. **Substrato** - Contém tampão 250 mmol/L pH 7,5, piruvato 6 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.

Material necessário e não fornecido:

- Espectrofotômetro UV com cubeta termostatizada;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS SORO.

A atividade enzimática é estável 4 dias entre 15 - 25 °C.

Devido a elevada concentração de LDH nos eritrócitos, uma demora na separação do soro ocasiona resultados elevados.

O soro ou plasma devem ser separados até 1 hora após a coleta.

Não utilizar amostras hemolisadas ou com sinais de contaminação bacteriana.

Nota

Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

TRATAMENTO OU MANUSEIO ANTES DE ESTAREM PRONTOS PARA USO

Preparo do Reagente de Trabalho

De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Coenzima (1) mais 1 volume de Substrato (2).

O Reagente de Trabalho é estável 1 dia entre 15 - 25 °C por 10 dias entre 2-8°C.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 340 nm
- Temperatura: 37 °C
- Tipo de reação: Cinética contínua decrescente

B. Técnica de Análise sem Calibrador

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra	20 µL

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostatizado a 37°C e acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial (A₀).

4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorbâncias (ΔA/minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o decréscimo de absorbância médio por minuto (ΔA/minuto médio).

Atenção

Uma absorbância inicial inferior a 0,800 indica que a amostra tem uma atividade enzimática de LDH alta. Neste caso, diluir a amostra e repetir o ensaio.

Cálculos

Ver Linearidade.

Considerando que o coeficiente de absorção milimolar do NADH em 340 nm no meio da reação é 6,3 deduz-se a seguinte fórmula para calcular a concentração catalítica :

U/L de LDH em 340 nm = ΔA/minuto médio x 8095

Onde: ΔA/min médio = Variação média da absorbância por minuto.

O fator 8095 é calculado com base nas condições da reação cinética contínua.

Esse fator deve ser recalculado sempre que se fizer qualquer modificação nos parâmetros da reação.

Ver método para cálculo do fator.

Exemplo

Se ΔA/minuto do teste = 0,026

Atividade LDH em U/L = ΔA teste X 8095

LDH = 0,026 x 8095 = 210 U/L

Cálculo do Fator

Fator = (Vt x 1000) ÷ (ε x Va x d)

Vt = Volume total do ensaio = 1020 µL

Va = Volume de amostra = 20 µL

1000 = Conversão de U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm

ε = Absorbância milimolar do NADH em 340 nm = 6,3

Fator = (1020 x 1000) ÷ (6,3 x 20 x 1) = 8095

C. Técnica de Análise com Calibrador REF. 410 da Gold Analisa

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra ou Calibrador	20 mL

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostatizado a 37°C o tubo Teste ou Calibrador e acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial (A₀).

4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorbâncias (ΔA/minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o decréscimo médio de absorbância por minuto do Calibrador e do Teste (ΔA/minuto médio).

Notas

1- Utilizar o Calibrador REF. 410 da Gold Analisa.

Ver Instruções de Uso e valor tabelado para LDH.

2- O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

3- Uma absorbância inicial inferior a 0,800 indica que a amostra tem uma atividade enzimática de LDH alta. Neste caso, diluir a amostra e repetir o ensaio.

Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).



$\Delta A/\text{minuto}$ médio = Variação média da absorbância por minuto.
AC = Atividade de LDH do Calibrador = x U/L (Ver valor de LDH na tabela do Calibrador)
AT = Atividade de LDH do Teste em U/L = $\Delta A/\text{minuto}$ do Teste \times FC
FC = Fator de Calibração = $AC \div \Delta A/\text{minuto}$ médio do Calibrador

Exemplo

Se $\Delta A/\text{minuto}$ médio do Calibrador = 0,051

Se $\Delta A/\text{minuto}$ médio do teste = 0,062

Se AC = 412 U/L (valor de LDH indicado na tabela do Calibrador)

FC = $AC \div \Delta A/\text{minuto}$ médio do Calibrador = $412 \div 0,051 = 8078$

AT = Atividade de LDH do Teste = $0,062 \times FC = 0,062 \times 8078 = 501$ U/L

Atenção

- As técnicas apresentadas são adequadas para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1000 μL .
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 μL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Conversão de Unidades

Unidade convencional (U/L) \times 0,0167 = Unidade SI ($\mu\text{Kat/L}$)

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES DO TESTE

A hemólise interfere produzindo resultados falsamente elevados.

A bilirrubina acima de 10 mg/dL produz resultados falsamente elevados e valores de triglicérides acima de 1800 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Linearidade

A reação é linear até 2000 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,2 e 1,3%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 14 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 4,8 e 4,7%.

Sensibilidade metodológica

Uma amostra protéica não contendo desidrogenase láctica foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio tendo sido encontrado um valor igual a 8,9 U/L, equivalente à média de 20 ensaios mais dois desvios padrão. Utilizando-se a absorbância mínima detectável como parâmetro, o limite de detecção fotométrica é de 8,1 U/L correspondendo a uma diferença de absorbância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz

Dois amostras com valores iguais a 1077 e 1333 U/L foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85 %). Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 8 foram encontradas recuperações entre 102 e 109 %.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

A gestão de riscos do produto é conduzida de maneira preventiva conforme estabelecido pela ISO 14971, garantindo que as ações implementadas sejam suficientemente eficazes para mitigar os riscos residuais. Todos os riscos identificados são tratados, eliminados e/ou controlados de forma rigorosa.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

VALORES DE REFERÊNCIA PARA ADULTOS

Adultos: 200 a 480 U/L

Crianças:

De 1 a 3 anos	De 4 a 9 anos	De 10 a 13 anos
490 a 730 U/L	320 a 520 U/L	250 a 500 U/L

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.+

DESCARTE DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E CONSUMÍVEIS

- Os reagentes Coenzima (1) e o Substrato (2) contém azida de sódio que pode reagir com cobre e chumbo dos encanamentos formando sais explosivos.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Fabricante legal: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0004-69

AFE Nº 8283957.

Endereço: Rua Carmelita Toledo, 240 - Eymard - CEP: 31.910-570 - Belo Horizonte - MG.

Regularizado por: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AFE Nº 800222-3

Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773

Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: assessoria@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Caso tenha interesse em obter, sem custo adicional, esta instrução de uso em formato impresso, basta realizar a solicitação através do e-mail assessoria@goldanalisa.com.br ou pelo telefone/whatsapp (31) 9577-2511.

Observe a correlação da versão da instrução de uso indicada no rótulo do produto adquirido.

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Telefone/WhatsApp (44) 3031-4020 / 44 99111-2726

Email: andre@labinga.com.br

Site: www.labinga.com.br/blue