LDH

MÉTODO:
Cinético UV (Piruvato-Lactato).

FINALIDADE:
Kit de reagentes para a determinação quantitativa da lactato desidrogenase no soro ou plasma heparinizado em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A D-lactato desidrogenase (LDH) é uma enzima intracelular de ocorrência em todos os tecidos, por ser importante passo da via glicolítica. O grande número de condições nas quais os níveis da LDH estão elevados diminui a utilidade diagnóstica de suas medidas. O nível de LDH é clinicamente útil no reconhecimento de infarto do miocárdio e no infarto pulmonar. É também extremamente útil no diagnóstico das lesões expansivas do fígado. Pode também ser usada para monitorar o tratamento de câncer, já que a resposta à terapia está frequentemente refletida no declínio dos níveis sérico.

FUNDAMENTO:
A LDH catalisa a conversão reversível do lactato para piruvato usando NADH como cofator. O teste utiliza o método cinético da *Deutsche Gesselschaft für Klinische Chemie* (DGKC) que avalia a diminuição de NADH utilizado na reação.

$$Piruvato + NADH + H^+ \xrightarrow{LDH} L\text{-}lactato + NAD^+$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Tampão Tris, pH 7,5	≥80	mmol/L
Cloreto de Sódio	≥200	mmol/L
Piruvato	≥1,6	mmol/L
R2:		
NADH	≥0,20	mmol/L

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

Opcionalmente, os reagentes podem ser utilizados como Reagente de Trabalho. Sendo que, nesse caso, a proporção da mistura é de 4 partes de Reagente 1 com 1 parte do Reagente 2. Homogeneizar antes do uso.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados de 2 a 8 °C.
O Reagente de trabalho é estável por 14 dias entre 2 e 8 °C.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 50 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 28 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis.
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade da lactato desidrogenase na amostra é de até 7 dias entre 2 e 8 °C, 4 dias entre 20 e 25 °C e 6 semanas a -20 °C.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	20 mg/dL
Bilirrubina	80 mg/dL
Hemoglobina	1000 mg/dL
Triglicérides	1500 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 340 nm (334 a 365 nm)
Temperatura: 37 ±0,5 °C
Tipo de reação: Cinética decrescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Marcar 3 tubos ou cubetas como Branco, Padrão e Amostra e proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	**Tubos ou cubetas**		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	125 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	125 µL	---
Amostra	---	---	125 µL
Homogeneizar bem e incubar por 1 minuto, então adicione:			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

2- Homogeneizar bem, incubar a 37 °C e ler absorbância inicial a 340 nm (334 a 365 nm) após 1 minuto acionando o cronômetro simultaneamente
3- Ler novamente a absorbância após 1, 2 e 3 minutos, respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância inicial

D-Cálculo com padrão:
Para avaliar a linearidade da reação, observar se as diferenças de absorbância a cada minuto são equivalentes. Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔAbs/min):

$$\Delta Abs/min = \frac{(Abs1 - Abs0) + (Abs2 - Abs1) + (Abs3 - Abs2)}{3}$$

$$\text{Atividade da LDH (U/L)} = \frac{\Delta Abs/min_{Amostra}}{\Delta Abs/min_{Padrão}} \times \text{Concentração do Calibrador/Padrão}$$

Exemplo:

Padrão:	Amostra:
A0 = 1,015	A0 = 1,025
A1 = 1,075	A1 = 1,065
A2 = 1,137	A2 = 1,107
A3 = 1,201	A3 = 1,251

$$\Delta Abs/min_{Padrão} = \frac{(1,075 - 1,015) + (1,137 - 1,075) + (1,201 - 1,137)}{3} = 0,062$$

$$\Delta Abs/min_{Amostra} = \frac{(1,065 - 1,025) + (1,107 - 1,065) + (1,251 - 1,107)}{3} = 0,075$$

Padrão = 204 U/L

$$\text{Atividade da LDH (U/L)} = \frac{0,075}{0,062} \times 204 = \mathbf{247\ U//L}$$

E-Cálculo com fator:
O fator calculado baseado no coeficiente de extinção molar e pode ser aplicado:

LDH, 37 °C, λ 340 nm	4127 × ΔAbs/min

VALORES DE REFERÊNCIA:

1 – 3 anos	490 – 730 U/L	(8,3 – 12,4 µkat/L)
4 – 9 anos	320 – 520 U/L	(5,4 – 8,8 µkat/L)
10 – 13 anos	250 – 500 U/L	(4,3 – 8,5 µkat/L)
Adultos	200 – 480 U/L	(3,4 – 8,2 µkat/L)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua

LDH

faixa de referência.
Conversão unitária: 1 U/L × 0,0167 = µkat/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 825 U/L (14 µkat/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 6,0 U/L (0,1 µkat/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	149,0	1,673	1,12
Amostra 2	310,3	2,925	0,94
Amostra 3	503,9	4,859	0,96

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	153,0	3,689	2,41
Amostra 2	316,1	6,685	2,11
Amostra 3	512,4	11,452	2,23

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 60 amostras comparando-se o reagente LDH (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 0,9996x + 0,0304$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9998

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO	
			R1	R2
LDH (Universal)	VYT010307180EN	100 mL	4 x 20 mL	2 x 10 mL
LDH (BM SERIES I)	VYT010308778EN	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
LDH (BM SERIES III)	VYT010307448EN	150 mL	2 x 60 mL	2 x 15 mL

ANVISA: 81692610092

BIBLIOGRAFIA:

1. Guder WG et al. List of Analytes Preanalytical Variables. In: Samples: From the Patient to the Laboratory, 2nd Ed. 2003.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ; Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
7. Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry, Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 10:281-91, 1972.
8. Bergmeyer, HU., Methods of Enzimatic Analisis, vol. 9, VCH Publishers, 449-453, 1985.
9. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
10. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
11. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:

Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:


Data de Fabricação


Data de Validade


Limite de Temperatura



Código do Produto


Consultar Instruções de Uso



Número do Lote

Produto para Diagnóstico In Vitro