

ACB-LDH

UV, cinétique

REF LDH4002

R1 6 x 12 ml
R2 1 x 19 ml

Utilisation

Réactif pour la détermination quantitative de l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH) dans le sérum et le plasma humains par un système manuel ou automatique.

Rappel

L'enzyme lactate déshydrogénase (LDH) est présente dans le coeur, le foie, les muscles et les reins. Elle catalyse la conversion du lactate en pyruvate.

L'enzyme est une protéine tétramérique et donne lieu à cinq isoenzymes.

La plus forte proportion de LD-1 et LD-2 se trouve au niveau du coeur, des reins, du cerveau et des érythrocytes. La plus forte proportion de LD-5 se trouve au niveau du foie et des muscles squelettiques.

Au cours de l'infarctus du myocarde, la LDH augmente significativement, un taux maximal est atteint dans les 48 heures suivant le début de la manifestation et persiste jusqu'à 10 jours.

Des taux sériques élevés de LDH ont été aussi observés chez des patients présentant une anémie et un traumatisme.

Une légère augmentation de l'activité de LDH est observée en cas d'anémie hémolytique, de dystrophie musculaire, d'infarctus pulmonaire, d'hépatite, de syndrome néphrotique et de cirrhose.

Principe de la méthode

La lactate déshydrogénase (LDH), par sa réaction couplée avec le NADH, catalyse la réduction du pyruvate en L-lactate comme suit :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de LDH. Elle est déterminée en mesurant l'absorbance à 340 nm.

Composition

R1 : Tampon

Tampon phosphate (pH 7.5) 50 mmol/L
Pyruvate 3 mmol/L
Azoture de sodium 8 mmol/L

R2 : Coenzyme

NADH > 0.18 mmol/L
Azoture de sodium 8 mmol/L

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler, éviter tout contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.

Les réactifs contiennent de l'azoture de sodium qui peut réagir avec les canalisations en cuivre ou en plomb.

Préparation, conservation et stabilité

Préparer une solution de travail en fonction du nombre de tests à réaliser en mélangeant 4 volumes de R1 avec 1 volume de R2. Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les étiquettes lorsqu'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C.

Après ouverture, les réactifs sont stables pendant 2 mois à la température spécifiée.

La solution de travail est stable pendant 3 semaines à 2-8°C et 2 jours à 15-25°C.

Symboles sur l'emballage du produit

	Pour diagnostic in vitro		Températures limites
	Numéro de lot		Date d'expiration
	Référence		Fabriqué par
	ATTENTION. Lire les instructions d'utilisation		(Xi) - Irritant

Détérioration

Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou si l'absorbance de la solution de travail est inférieure à 1.0 AU à 340 nm.

Prélèvement, conservation et stabilité des échantillons

Utiliser du sérum ou du plasma hépariné, non hémolysés.

Les échantillons sont stables pendant 6 semaines à 4-8°C et 4 jours à 20-25°C.

Il n'est pas recommandé de congeler les échantillons.

Procédure

Paramètres du système

Longueur d'onde	340 nm (334 - 365)
Cuvette	1 cm
Type de réaction	Cinétique
Sens de réaction	Décroissant
Ratio Echantillon/Réactif	1 : 50
Température	37 °C
Point zéro (Ajustement)	Contre l'air

1. Pipeter dans des tubes à essai (37°C) :

	Macro	Semi-Macro
Solution de travail	1 ml	500 µl
Echantillon	20 µl	10 µl

2. Mélanger, lire l'absorbance initiale après 30 secondes. Démarrer le chronomètre simultanément. Relire après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la variation d'absorbance moyenne par minute ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

Activité catalytique de LDH (U/L) = $\Delta A/\text{min} \times \text{Facteur}$.

Facteur = 8095 à 340 nm.

Facteur = 15000 à 365 nm.

Contrôle de qualité

Il est recommandé de tester conjointement des sérums de contrôle normal et pathologique à chaque série.

ACB-Normotrol **REF** GLUN001

ACB-Pathotrol **REF** GLUP001

Performance de la méthode

Précision

N (20)	Répétabilité intra-série		
	Moyenne (U/L)	SD	CV %
Niveau 1	433	6.8	1.57
Niveau 2	923	6.64	0.71

N (20)	Reproductibilité inter-série		
	Moyenne (U/L)	SD	CV %
Niveau 1	439	7.1	1.62
Niveau 2	935	6.71	0.79

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection du réactif est de 10 U/L.

Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration en LDH de 1200 U/L.

Les échantillons présentant une concentration plus élevée doivent être dilués à 1/6 en utilisant une solution physiologique saline.

Répéter l'essai, (résultat x6).

Intervalle analytique

10 - 1200 U/L.

Interférences

Hémolyse

La contamination par les érythrocytes provoque l'augmentation des résultats, puisque l'activité de LDH est 150 fois plus élevée dans les érythrocytes que dans le sérum.

Ictère

Aucune interférence significative.

Lipémie

Les échantillons lipémiques peuvent provoquer une augmentation d'absorbance. Une dilution est recommandée.

Anticoagulants

L'EDTA et le citrate ont un effet inhibiteur sur la réaction.

Valeurs de référence (à 37 °C)

Adultes 240 - 480 U/L (4 - 8 µKat/L)

Enfant (7-12 ans) :

Sexe féminin < 580 U/L (< 9.65 µKat/L)

Sexe masculin < 764 U/L (< 12.7 µKat/L)

Prématurés < 1103 U/L (< 18.4 µKat/L)

Le facteur de conversion de la température est de :

0.5 (37 à 25 °C).

0.67 (37 à 30 °C).

Traitement des déchets

Ce produit est fabriqué pour être utilisé par des professionnels dans les laboratoires. Consulter la réglementation locale pour la procédure de traitement des déchets.

S56 : Eliminer ce matériel et son emballage dans un conteneur de collecte de déchets dangereux ou spéciaux.

S57 : Utiliser un conteneur adapté afin d'éviter la contamination de l'environnement.

S61 : Eviter l'élimination dans la nature ; se référer aux instructions de fiche de sécurité.

Bibliographie

1. Dito WR. Lactate dehydrogenase: A brief review. In: Griffiths JC, ed. Clinical Enzymology. New York :masson publishing USA; 1979:18
2. Kachmar JF, Moss DW: Enzymes. In Fundamentals of clinical chemistry. NW Tietz, editor, saunders, philadelphia, 1976 pp 652-6603.
3. Van der heiden C, B Ais, Gerh Ardt W, Rosallsis. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for LDH. Eur J Clinical Chem Clin Biochem. 1994;32:639-655
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. AACC press, Washington D.C., 1990
5. Zimmerman HJ, Henry JB: Clinical enzymology. In: Clinical diagnosis and management by laboratory methods, 16 th., JB Henry, editor, saunders, philadelphia, 1979, pp 365-368.