

LDH FS*

IFCC

CODE CQN : DR

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de lactate déshydrogénase (LDH) dans le sérum ou le plasma sur systèmes photométriques

Présentation

Références	Emballage coffret		
1 4211 99 10 021	R1	5 x 20 mL +	R2 1 x 25 mL
1 4211 99 10 704	R1	8 x 50 mL +	R2 8 x 12,5 mL
1 4211 99 10 930	R1	4 x 20 mL +	R2 2 x 10 mL
1 4211 99 90 305	R1	10 x 12 mL +	R2 2 x 20 mL

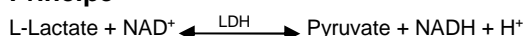
Intérêt Clinique [1,2]

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme, composée de cinq isoenzymes différentes qui catalysent l'inter conversion du L-lactate et du pyruvate. La LDH est présente dans le cytoplasme de tous les tissus humains, avec des concentrations plus élevées dans le foie, le cœur et le muscle squelettique et des concentrations plus faibles dans les érythrocytes, le pancréas, le rein et l'estomac. On observe une augmentation de l'activité de la LDH dans un grand nombre de situations pathologiques, comme l'infarctus du myocarde, les maladies du foie et du sang, les affections cancéreuses ou musculaires. Cependant, en raison de la faible spécificité d'organe de la LDH, la mesure de ses iso enzymes ou d'autres enzymes comme la phosphatase alcaline ou les transaminases ALAT/ASAT est nécessaire pour établir un diagnostic différentiel.

Méthode

Méthode optimisée selon IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) et DGKC (Société Allemande de Chimie Clinique).

Principe



Réactifs

Composants et Concentrations

R1 :	N-Méthyle-D-Glucamine	pH 9,40	420 mmol/L
	L-Lactate		65 mmol/L
R2 :	NAD ⁺		50 mmol/L

Préparation et Conservation des réactifs

Les réactifs sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler les réactifs !
Le réactif 2 doit être protégé de la lumière !

Avertissements et précautions d'emploi

- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs faussées [8].
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et de prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel !

Elimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation des réactifs

Démarrage par le substrat

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Démarrage par l'échantillon

Mélanger 4 volumes de R1 avec 1 volume de R2

(Exemple 20 mL R1 + 5 mL R2) = mono réactif.

Stabilité : 12 heures entre + 2 °C et + 8 °C

2 heures entre +15 °C et +25 °C

Le mono réactif doit être protégé de la lumière !

Matériels requis mais non fournis

Solution NaCl 9 g/L
Equipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum, plasma recueilli sur héparine ou EDTA

Stabilité [4] :

4 jours entre +20 °C et +25 °C

6 semaines entre +4 °C et +8 °C

Eliminer les échantillons contaminés !

Mode opératoire

Des notices d'application adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Trajet optique	1 cm
Température de mesure	+37 °C
Mesure	Contre le blanc réactif

Démarrage par le substrat

Échantillon/Calibrant	Blanc	Échantillon
Échantillon/Calibrant	-	20 µL
Eau distillée	20 µL	-
Réactif 1	1000 µL	1000 µL
Mélanger, incuber pendant 1 à 5 min. puis ajouter :		
Réactif 2	250 µL	250 µL
Mélanger, lire l'absorbance après 1 min. et déclencher le chronomètre. Lire l'absorbance à nouveau après 1, 2 et 3 min.		

Démarrage par l'échantillon

Échantillon/Calibrant	Blanc	Échantillon
Échantillon/Calibrant	-	20 µL
Eau distillée	20 µL	-
Mono réactif	1000 µL	1000 µL
Mélanger, lire l'absorbance après 1 min. et déclencher le chronomètre. Lire l'absorbance à nouveau après 1, 2 et 3 min.		

Calcul

Avec facteur

Calculer le $\Delta A / \text{min}$ à partir des mesures d'absorbance et multiplier par le facteur correspondant du tableau ci-dessous :

$\Delta A / \text{min} \times \text{facteur} = \text{activité de LDH [U/L]}$

Démarrage par le substrat

340 nm	10080
334 nm	10275
365 nm	18675

Démarrage par l'échantillon

340 nm	8095
334 nm	8250
365 nm	15000

Avec calibrant

$$\text{LDH [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min Échantillon}}{\Delta A / \text{min Calibrant}} \times \text{Conc. Calibrant [U/L]}$$

Facteur de conversion

$$\text{LDH [U/L]} \times 0,0167 = \text{LDH [\mu kat/L]}$$

Calibrants et Contrôles

Pour la calibration des systèmes photométriques automatisés, le calibrant TruCal U de DiaSys est recommandé. Cette méthode a été standardisée par rapport à la méthode de référence de l'IFCC. Les contrôles DiaSys TruLab N et P devraient être utilisés pour le contrôle de qualité interne. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Taille coffret		
TruCal U	5 9100 99 10 063	20	x	3 mL
	5 9100 99 10 064	6	x	3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20	x	5 mL
	5 9000 99 10 061	6	x	5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20	x	5 mL
	5 9050 99 10 061	6	x	5 mL

Performances

Domaine de mesure

Sur des systèmes automatisés, le test se prête à déterminer des activités de LDH jusqu'à 1200 U/L.

Lors d'une détermination manuelle, le test est approprié pour mesurer des activités de LDH correspondant à une absorbance $\Delta A/\text{min}$ d'un maximum 0,15 à 340 et 334 nm ou 0,08 à 365 nm.

Au delà de ces valeurs, diluer le spécimen 1 + 10 avec de la solution de chlorure de sodium (9 g/L) et multiplier le résultat par 11.

Spécificité/Interférences

Aucune perturbation n'a été observée par la présence d'acide ascorbique jusqu'à 300 mg/L, de bilirubine jusqu'à 400 mg/L et de lipémie jusqu'à 20 g/L de triglycérides. L'hémolyse interfère dans le dosage de la LDH libérée par les érythrocytes. Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [5].

Sensibilité/Limite de détection

La limite de détection analytique est de 5 U/L.

Etude de précision

Intra série n = 20	Moyenne [U/L]	DS [U/L]	CV [%]
Échantillon 1	178	2,00	1,12
Échantillon 2	187	2,12	1,14
Échantillon 3	566	2,27	0,40

Inter série n = 20	Moyenne [U/L]	DS [U/L]	CV [%]
Échantillon 1	170	1,62	0,95
Échantillon 2	176	2,48	1,41
Échantillon 3	566	3,61	0,64

Comparaison de méthodes

Une comparaison de la LDH IFCC FS de DiaSys (y) avec le réactif de l'IFCC sur le marché (x), réalisée sur 51 échantillons, a donné les résultats suivants :

$y = 0,949x + 8,451$ U/L ; Coefficient de corrélation : $r = 0,998$.

Une comparaison de la LDH IFCC FS de DiaSys (y) avec une méthode disponible sur le marché (x), réalisée sur 216 échantillons, a donné les résultats suivants :

$y = 0,998x + 0,504$ U/L ; Coefficient de corrélation : $r = 0,999$.

Valeurs usuelles



	Féminin [U/L]	Masculin [U/L]	Féminin [$\mu\text{kat/L}$]	masculin [$\mu\text{kat/L}$]
Adultes [6]	< 247	< 248	< 4,12	< 4,14
Enfants [7]				
1 – 30 Tag(e)	145 – 765	125 – 735	2,42 – 12,8	2,09 – 12,3
31 jours – 1 an	190 – 420	170 – 450	3,17 – 7,01	2,84 – 7,52
1 – 3 an(s)	165 – 395	155 – 345	2,76 – 6,60	2,59 – 5,76
4 – 6 ans	135 – 345	155 – 345	2,25 – 5,76	2,59 – 5,76
7 – 9 ans	140 – 280	145 – 300	2,34 – 4,68	2,42 – 5,01
10 – 12 ans	120 – 260	120 – 325	2,00 – 4,34	2,00 – 5,43
13 – 15 ans	100 – 275	120 – 290	1,67 – 4,59	2,00 – 4,84
16 – 18 ans	105 – 230	105 – 235	1,75 – 3,84	1,75 – 3,92

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références bibliographiques

1. Thomas L. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft;1998. 89-94.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company;1999.617–721.
3. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. (German Society for Clinical Chemistry). Recommendation for the determination of the catalytic concentration of lactate dehydrogenase at 37 °C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:897-9.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 36-7.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 3: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase. Clin Chem Lab Med 2002;40:643-48.
7. Soldin JS, Hicks JM. Pediatric reference ranges. Washington: AACC Press;1995:95.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240–1243.

Fabricant

  DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim (Allemagne)