

LDH FS*

DGKC 1970

CODE CQN : B1

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

Présentation

Références	Emballage coffret			
1 4201 99 10 021	R1	5 x 20 mL	+ R2	1 x 25 mL
1 4201 99 10 026	R1	5 x 80 mL	+ R2	1 x 100 mL
1 4201 99 10 023	R1	1 x 800 mL	+ R2	1 x 200 mL
1 4201 99 10 704	R1	8 x 50 mL	+ R2	8 x 12,5 mL
1 4201 99 10 917	R1	8 x 60 mL	+ R2	8 x 15 mL
1 4201 99 90 305	R1	10 x 12 mL	+ R2	2 x 20 mL

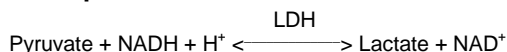
Intérêt Clinique [1,2]

Le 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 les recommandations de la DGKC (Société Allemande de Chimie Clinique) [3].

Principe**Réactifs****Composants et Concentrations**

R1:	Tampon phosphate	pH 7,5	64 mmol/L
	Pyruvate		0,80 mmol/L
R2:	Tampon de Good	pH 9,6	
	NADH		1,0 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

- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (0,95 g/L) comme conservateur. Ne pas avaler ! Eviter le contact avec la peau et les muqueuses.
- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs faussées [7].
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et 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 : 5 jours entre +2 °C et +8 °C
8 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	+25 °C/+30 °C/+37 °C
Mesure	Contre l'air

Démarrage par le substrat

Température	25 °C/+30 °C	+37 °C
Échantillon/Calibrant	20 µL	10 µL
Réactif 1	1000 µL	1000 µL
Mélanger, incuber pendant environ 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

Température	25 °C/30 °C	+37 °C
Échantillon/Calibrant	20 µL	10 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	+25 °C/+30 °C	+37 °C
340 nm	10080	20000
334 nm	10275	20390
365 nm	18675	37060

Démarrage par l'échantillon	+25 °C/+30 °C	+37 °C
340 nm	8095	16030
334 nm	8250	16345
365 nm	15000	29705

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 est établie par rapport au coefficient d'extinction molaire. Pour le contrôle de qualité interne, les contrôles DiaSys TruLab N et P devraient être utilisés. 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 étant 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 (à +25°C)

Intra série n = 20	Moyenne [U/L]	DS [U/L]	CV [%]
Échantillon 1	142	5,50	3,86
Échantillon 2	245	4,95	2,01
Échantillon 3	497	8,39	1,69

Inter série N = 20	Moyenne [U/L]	DS [U/L]	CV [%]
Échantillon 1	144	3,09	2,13
Échantillon 2	248	4,53	1,82
Échantillon 3	492	6,23	1,26

Comparaison de méthodes

Une comparaison de la LDH FS de DiaSys (y) avec une méthode disponible sur le marché (x), réalisée sur 78 échantillons, a donné les résultats suivants :

$$y = 1,03 x + 2,13 \text{ U/L ; Coefficient de corrélation : } r = 0,999.$$

Valeurs usuelles [6]

	+25 °C	+30 °C	+37 °C	Unité
Adultes :	< 240	< 346	< 480	[U/L]
	< 4	< 5,77	< 8	[μkat/L]

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.p.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. Empfehlungen der deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC). Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. Z Klin Chem Klin Biochem 1972;10:182-92.
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. Fischbach F, Zawta B. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klin Lab 1992;38:555-61.
7. 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)