

Réactif du LDH-L

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	5 jours entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	:	20 - 1000 U/L
Nature de l'échantillon	:	Sérum
Méthode	:	Cinétique
Préparation du réactif	:	Ajouter le volume spécifié d'eau distillée ou déminéralisée.

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro de la LDH (L-Lactate : NAD oxydoréductase EC 1.1.1.27) dans le sérum humain sur des systèmes manuels ou automatisés.

INTERET CLINIQUE

L'enzyme Lactate déshydrogénase (LDH) se concentre dans les tissus du coeur, du rein, du foie, des muscles et cellulaire. Par conséquent, les dommages à ces tissus provoquent une augmentation des niveaux de la LDH du sérum. Les niveaux élevés sont associés à l'infarctus du myocarde, aux dommages rénaux, à l'hépatite, à l'anémie, aux malignités et aux maladies ou dommages musculaires¹. Il existe au moins cinq formes de LDH séparable par électrophorèse. La forme prédominante présente varie avec le tissu d'origine, et, par conséquent, a une valeur de diagnostic².

PRINCIPE DE LA METHODE

Bien que l'activité de la LDH-L puisse être mesurée en utilisant le pyruvate ou le lactate comme substrat, ce réactif utilise le lactate et se base sur la procédure de Gay, McComb et Bowers.³



LDH catalyse l'oxydation du lactate en pyruvate en réduisant le dinucléotide de l'adénine nicotinamide (NAD) en NADH. L'activité de la LDH-L peut être déterminée par le taux d'augmentation de l'absorbance à 340 nm pendant la production de la NADH.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs	Concentration
Tampou Tris	100 mmol/L
NAD	7 mmol/L
Lactate de lithium	50 mmol/L
KCl	120 mmol/L
pH 9,0 ± 0,1 à 20°C.	

PRECAUTIONS: Ne pas ingérer. Eviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. La fiche de sécurité sur le réactif de la LDH-L, contient des informations plus détaillées. L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec Manipuler avec précaution les sertissages et les fioles en verre cassées, car les bords acérés peuvent blesser l'utilisateur.

R36/38 Irritant pour les yeux et la peau.

S26 En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué sur l'étiquette du flacon. Mélanger doucement jusqu'à dissolution.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation:

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Réactif reconstitué:

Stocké entre 2 et 8°C, le réactif est stable pendant au moins 5 jours.

Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité; et/ou
- Impossibilité d'obtenir les valeurs de contrôle dans leur fourchette de tolérance.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

	Représentant Autorisé		Limites de température
	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xi - Irritant

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Sérum²: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Plasma: non recommandé.

Conservation²: Les échantillons de LDH-L peuvent être stockés au moins 1 à 3 jours à température ambiante (18-25 °C) et au moins 7 jours à 4 °C. Ne pas congeler l'échantillon car ceci détruira l'isoenzyme du foie.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 340 nm.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Eau distillée ou désionisée pour la préparation du réactif et le matériel requis, par ex.: pipettes.
- Serum de contrôle normal et pathologique.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Le paramétrage suivant est recommandé. Des applications selon les analyseurs utilisés sont disponibles sur demande auprès de notre Service Applications.

PARAMETRAGE DU SYSTÈME

Température	30°/37°C
Longueur d'onde	340 nm (334 - 365nm)
Type de dosage	Taux/Cinétique
Sens de la réaction	Augmentation
Échantillon: taux de réactif	1:60
p. ex.: Volume de l'échantillon	0,025 mL
Réactif Vol.	1,5 mL
Délai/Retard	30 secondes
Temps de lecture	60 secondes
Limites du blanc du réactif	Basse 0,0 AU
(340 nm, chemin optique de 1 cm)	Haute 2,0 AU
Linéarité	20 - 1000 U/L
(voir la section linéarité)	
Sensibilité	0,103 ΔmA/min par U/L
(340 nm, chemin optique de 1 cm)	

CALCULS

Les résultats sont calculés directement par l'analyseur selon la formule suivante:

Activité en U/L = ΔAbs/min x Facteur

$$\text{Facteur} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Où :

TV = Volume total de la réaction en mL

SV = Volume de l'échantillon en mL

6,3 = Coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 340 nm (Voir note 4).

P = Longueur de chemin de cuvette en cm.

Exemple:

ΔAbs/min = 0,015

Facteur = 9683

LDH = 0,015 x 9683 = 145 U/L

REMARQUES

1. Les volumes de réactifs et d'échantillon peuvent être modifiés en respectant leur proportionnalité afin de s'adapter aux caractéristiques de chaque analyseur de biochimie.
2. Si la variation de l'absorbance est supérieure à 0,10 /min, diluer avec une solution saline et doser à nouveau. Multiplier le résultat final par le facteur de dilution.
3. La validité des résultats dépend de la précision de l'étalonnage de l'appareil, de la synchronisation et du contrôle de la température.
4. Le coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 334 nm = 6,18 et à 365 nm = 3,40.
5. Conversion d'unité : U/L x 16,67 x 10⁻³ = µkat/L

CALIBRAGE

Non requis . Le taux de réaction est converti en U/L d'activité par un facteur de calcul. Voir la section Calcul du présent insert d'emballage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Afin d'assurer un contrôle de qualité approprié, utiliser un contrôle normal et un contrôle pathologique au moins une fois toutes les huit heures, mais également dans les contextes suivants :

- Au moins toutes les huit heures
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisée.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes:

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats restent hors des limites sur un matériau de contrôle frais, répéter le test avec un réactif neuf.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service Applications.

LIMITES DE LA PROCEDURE

1. Les études pour déterminer le niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie ont été effectuées avec un analyseur de biochimie automatisé. Les résultats suivants ont été obtenus:
Hémoglobine: Aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 500mg/dL.
Bilirubine: aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 510 µmol/L (30 mg/dL).
Lipémie: aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 11,4 mmol/L (1000 mg/dL).
2. Young DS⁴ a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES⁵

A 37°C 114 - 240 U/L

Les valeurs indiquées ne représentent que la plage prévue pour cette méthode et ne sont que des indications. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.⁶

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif à l'LDH-L sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs doivent établir les performances du produit sur leur propre analyseur.

IMPRÉCISION

L'imprécision a été évaluée avec deux niveaux de contrôle du commerce en respectant la procédure NCCLS EP5-T.⁷

	NIVEAU I	NIVEAU II
Moyenne (U/L)	120	526
CV (%) Dans la session	2,3	1,3
CV (%) D'un jour à l'autre	3,2	1,9

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un autre réactif du commerce similaire comme référence. Des échantillons de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	85 - 696 U/L
Moyenne des mesures (référence)	169 U/L
Moyenne des résultats de l'LDH-L	172 U/L
Pente	0,99
Coordonnées à l'origine	4,4 U/L
Coefficient de Corrélation	0,997

LINÉARITÉ

Utilisé selon les prescriptions, le dosage est linéaire entre 20 et 1000 U/L (0,33 et 16,67 µkat/L).

SENSIBILITÉ

Effectué selon les recommandations, ce dosage a une sensibilité de 0,103 ΔmA/min par U/L.

RÉFÉRENCES

1. Searcy, R. L., Diagnostic Biochemistry, McGraw-Hill, New York, NY, 1969.
2. Tietz, N. W., (Ed) Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, 1976.
3. Gay, R.J., McComb, R.B. and bowers, G.H. Jr., Clin. Chem. 14, (740) 1968.
4. Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990; 3:221-4.
5. Bais and Philcox., Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1994;32:639.
6. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.



Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



840396 (RO)

REF

Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
TR20010/1670-200	20 x 10 mL
TR20015	20 x 20 mL
TR20003/1670-500	10 x 50 mL
TR20004	10 x 200 mL