

Réactif du LDH-P

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	5 jours entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 1300 U/L (21,7 µkat/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 dans le sérum humain sur des systèmes manuels ou automatisés.

INTERET CLINIQUE

L'enzyme Lactate déshydrogénase (LDH) se concentre dans les tissus du cœur, 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 puisse se mesurer en utilisant le pyruvate ou le lactate comme substrat, ce réactif utilise le pyruvate et se base sur la procédure de Henry et al³.



La LDH catalyse la réduction du pyruvate en lactate en oxydant la nicotinamide adénine dinucléotide réduite (NADH) en NAD. L'activité de la LDH peut être déterminée par le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm pendant la production de la NAD.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs	Concentration
Acide pyruvique	0,62 mmol/L
NADH	0,24 mmol/L
Tampon Phosphate	50 mmol/L

pH 7,4 ± 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. Le réactif contient de l'Azide de sodium et est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre résiduels. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité sur le réactif de la LDH-P. contient des informations plus détaillées. L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec Manipuler avec précaution les sertissages métalliques et les flacons en verre cassés, car les bords acérés peuvent blesser l'utilisateur.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué sur l'étiquette du flacon.

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;
- Absorbance du réactif <0,9 AU à 340 nm (trajet optique de 1 cm); et/ou
- Impossibilité d'obtenir les valeurs de contrôle dans leur fourchette de tolérance.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Sérum²: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Plasma: non recommandé.

Conservation²: Les échantillons de LDH 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.

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		

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 principale	340 nm (334 - 365nm)
Longueur d'onde secondaire	380 nm
Type de dosage	Taux/Cinétique
Sens de la réaction	Diminution
Échantillon: taux de réactif	1:50
p. ex.: Volume de l'échantillon	5 µL
Réactif Vol.	250 µL
Délai/Retard	60 secondes
Temps de lecture	60 secondes
Limites du blanc du réactif	Basse 0,9 AU
(340 nm, chemin optique de 1 cm)	Haute 2,0 AU
Linéarité	jusqu'à 1300 U/L
(voir la section linéarité)	(21,7 µkat/L)
Sensibilité	0,124 ΔmA/min par U/L
(340 nm, chemin optique de 1 cm)	(7,43 ΔmA/min par µkat/L)

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 = 0,014

Facteur = 8095

LDH = 0,014 x 8095 = 113 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 l'absorbance est modifiée de plus de 0,16/min, répéter le dosage avec un échantillon plus petit ou diluer avec une solution saline. Se rappeler de régler le facteur pour un volume d'échantillon inférieur ou 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. Des études menées pour déterminer le niveau d'interférence entre l'hémoglobine, la bilirubine et la lipémie, ont donné les résultats suivants :

Hémoglobine: Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés.

Bilirubine libre: Aucune interférence de la bilirubine à l'état libre jusqu'à 280 µmol/L (16,4 mg/dL).

Bilirubine conjuguée: Aucune interférence avec la bilirubine conjuguée jusqu'à 286 µmol/L (16,7 mg/dL).

Lipémie: aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 9.04 mmol/L (800 mg/dL).

2. Young DS⁴ a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES³

A 37°C 140 - 300 U/L (2,34 - 5,01 µkat/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.⁵

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif à l'LDH-P 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.

Dans la session	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	20	20
Moyenne (U/L)	292	830
Moyenne (µkat/L)	4,88	13,9
SD (U/L)	4,73	8,28
SD (µkat/L)	0,079	0,138
CV (%)	1,62	1,00

D'un jour à l'autre

	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	20	20
Moyenne (U/L)	298	844
Moyenne (µkat/L)	4,98	14,1
SD (U/L)	6,21	12,70
SD (µkat/L)	0,104	0,212
CV (%)	2,08	1,50

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un réactif du LDH-P 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	185 - 474 U/L (3,09 - 7,92 µkat/L)
Moyenne des mesures (référence)	260 U/L (4,34 µkat/L)
Moyenne des résultats de l'LDH-P	276 U/L (4,61 µkat/L)
Pente	1,04
Coordonnées à l'origine	5,7 U/L (0,095 µkat/L)
Coefficient de Corrélation	0,99

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 1300 U/L (21,7 µkat/L).


SENSIBILITÉ

Effectué selon les recommandations, ce dosage a une sensibilité de 0,124 ΔmA/min par U/L (7,43 ΔmA/min par µkat/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. Henry R.J., Chiamori N., Golub O.J., and Berkman S., Am.J.Clin.Path. 34 (381), 1960
4. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests Third Edition 1990; 3: 34-6.
5. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 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



840336 (R0)

REF

Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
TR21010	20 x 10 mL
TR21015	20 x 20 mL
TR21003	10 x 50 mL