

Utilisation

Pour la détermination cinétique quantitative *in vitro* de l'activité de la lactate déshydrogénase dans le sérum à l'aide des analyseurs Yumizen C230 et Yumizen C240. **A usage médical uniquement**

Signification clinique

Des taux accrus de LD sont associés à un infarctus du myocarde. Les niveaux atteignent un maximum environ 48 heures après l'apparition de la douleur et persistent environ dix jours. Le degré d'élévation est utile pour évaluer l'étendue des dommages et établir un pronostic. Des élévations de LD sont également observées dans les maladies du foie, l'anémie pernicieuse, dans certains cas de maladie rénale et dans certains cas de traumatisme musculaire squelettique. ¹

Historique

Wroblewski et Ladue² ont publié la première méthode cinétique UV pour la détermination de l'activité LDH dans le sérum en 1955. Leur méthode était basée sur le test classique de Kubowitz et Ott³ (1943) utilisant le pyruvate pour la réaction de lactate. En 1956, Wacker et al⁴ ont décrit une procédure qui suivait une réaction de lactate à pyruvate. La réaction lactate-pyruvate est devenue la réaction préférée⁵, même si la plus lente des deux, en raison d'une plage linéaire plus large⁶ et de l'absence d'exigence de pré-incubation⁷. La méthode actuelle suit la réaction directe et a été optimisée pour une plus grande sensibilité et linéarité, comme l'ont souligné Gay et al. ⁸

Principe



La lactate déshydrogénase catalyse l'oxydation du lactate en pyruvate avec réduction simultanée du NAD en NADH. Le taux de réduction du NAD peut être mesuré comme une augmentation de l'absorbance à 340 nm. Ce taux est directement proportionnel à l'activité LD dans le sérum.

Composition du réactif

Après combinaison de R1 et R2, le réactif contient : NAD 5,8 mM, L-Lactate 55 mM, pH tampon 8,95. Stabilisants non réactifs et azoture de sodium (0,1%) comme agent de conservation.

Préparation du réactif

Les réactifs sont fournis sous forme de liquides prêts à l'emploi.

Stockage et stabilité des réactifs

Les réactifs sont stables jusqu'à l'expiration indiquée s'ils sont stockés conformément aux directives. Protéger de la lumière. Éviter la contamination microbienne.

Précautions

- Ce réactif est destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- Les réactifs contiennent de l'azoture de sodium (0,1%) comme agent de conservation. Ne pas ingérer. Évitez le contact avec la peau et les yeux. L'azoture de sodium peut réagir avec les installations sanitaires en plomb et en cuivre et donner lieu à des azides métalliques explosifs. Rincer à grande eau lors de l'élimination du réactif.
- Tous les échantillons et contrôles doivent être manipulés conformément aux bonnes pratiques de laboratoire en utilisant les précautions appropriées décrites dans le manuel CDC/NIH, « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, » 2nd ed., 1988, HHS Publication No. (CDC) 88-8395.

Prélèvement et stockage des échantillons

- Le sérum non hémolysé est recommandé. Les globules rouges contiennent de grandes concentrations de LD.⁵
- Le sérum doit être séparé du caillot rapidement.
- Les échantillons doivent être analysés peu de temps après le prélèvement. Le LD dans le sérum est stable pendant deux à trois jours à température ambiante.⁹

- Ne pas congeler ou exposer le sérum à des températures élevées (37 °C), car cela pourrait inactiver les isoenzymes LD thermolabiles. ¹⁰
- La collecte des échantillons doit être effectuée conformément à la norme NCCLS M29-T2.11 Aucune méthode ne peut garantir que les échantillons de sang humain ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Interférences

- Certains médicaments et substances affectent l'activité des LD. Voir Young et al.¹².
- La bilirubine à un niveau de 20 mg / dl s'est avérée présenter une interférence négligeable (≤ 5%) dans ce test.
- Il a été démontré que l'hémolyse interfère de manière significative avec le test à des niveaux aussi bas que 100 mg / dl.

Matériel fourni

Réactif tampon lactate déshydrogénase (R1)
 Réactif coenzyme (R2) de la lactate déshydrogénase

Matériel requis mais non fourni

- Analyseur Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuel utilisateur Yumizen C230 / Yumizen C240
- Contrôle Pointe Chimie, numéro de catalogue C7592-100

Paramètres du test

Test:	LDH	Chemistry:	Lactate Dehydrogenase
Chemistry No.:	223	Print Name:	LDH
Reaction Type:	Kinetic	Reaction Direction:	Positive
Pri. Wave:	340 nm	Sec. Wave:	405 nm
Decimal.:	0	Samp. Type:	Serum
Blank Time:		Reaction Time:	3 11
Unit:	U/L	Incubation Time:	3

	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.	Diluent
Standard;	11	uL	uL	180	uL uL
Decreased;		uL	uL	45	uL uL
Increased;		uL	uL	uL	

Linearity Range (Standard):	0-1000	Linearity Limit:	0.3
Linearity Range (Decreased):		Substrate Depletion:	23000
Linearity Range (Increased):		Mixed Blank Abs.:	- 40000 40000
R1 Blank Abs.:	- 40000 40000	On-board Stability:	30 Day (s)
Blank Response	- 40000 40000	Reagent Alarm Limit:	5
Twin Chemistry:			

Prozone Check:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Use Qualitative Result:	
Range:	Flag:

Slope Offset:			
Slope	Offset	Unit	
1	0	U/L	

Pretreatment:			
---------------	--	--	--

Pointe Liquid Lactate déshydrogénase Kits réactifs

Pre-treat Sample Vol.: uL Pre-treat Reagent Vol.: uL

Ref. Range:
Sample Type: Gender: Age Range: Ref. Range: Critical Range: Unit:

Paramètres d'étalonnage

Chem: LDH																	
Calibration Setting	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>Calibrator</th> <th>Conc.</th> <th>Pos</th> <th>Lot No.</th> </tr> <tr> <td>Water</td> <td>0.0</td> <td>W</td> <td></td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>	Calibrator	Conc.	Pos	Lot No.	Water	0.0	W									
Calibrator	Conc.	Pos	Lot No.														
Water	0.0	W															
Math Model: K Factor																	
Factor: 3907.000 Replicates: 2																	
Acceptance Limits																	
Cal Time: 24 hr.																	
Slope Diff: SD:																	
Sensitivity: Repeatability:	* User Defined																
Deter Coeff:																	
Auto Calib.																	
<input type="checkbox"/> Cal Time																	

Limites

- Le sérum hémolysé provoquera des taux de LD sériques faussement élevés.
- Les échantillons qui dépassent la limite de linéarité (1000 U/L) doivent être dilués avec un volume égal de solution saline et analysés de nouveau. Multipliez les résultats par deux pour compenser la dilution.

Calibration

La procédure est normalisée au moyen de l'absorptivité millimolaire du NADH prise comme 6,22 à 340 nm dans les conditions d'essai décrites.

Contrôle de qualité

La validité de la réaction doit être surveillée à l'aide d'échantillons témoins dont les LD normales et anormales sont connus. Ces contrôles doivent être effectués au moins à chaque période de travail au cours de laquelle des tests de LD sont réalisés. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fréquence de détermination du contrôle. Les exigences du contrôle qualité doivent être effectuées conformément aux réglementations locales, national ou aux exigences d'accréditation.

Calculs (Exemple)

Une unité internationale (U/L) est définie comme la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une micromole de substrat par minute.

$$IU/L = \frac{(A_2 - A_1) \times 1.050 \times 1000}{1 \times 6.22 \times .050 \text{ ml}} = (A_2 - A_1) \times 3376$$

Où :

- (A₂-A₁) = Changement d'absorbance
- 1.050 = Volume total de réaction en ml
- 1000 = Conversion de U/ml en U/L
- 1. = Trajet de la lumière en cm
- 6.22 = Absorptivité millimolaire du NADH
- 0.050 = Volume de l'échantillon en ml

Exemple : Si lecture initiale (A₁) = 0.450
Lecture finale (A₂) = 0.480
(A₂-A₁) = 0.03
Alors 0.03 x 3376 = 101 U/L

Note : Pour les unités SI (nkat/L), multiplier le résultat par 16.76.

Valeurs attendues⁵

Homme 50-166 U/L (30°C) 80-285 U/L (37°C)
Femme 60-132 U/L (30°C) 103-227 U/L (37°C)

En raison d'un large éventail de conditions (alimentaires, géographiques, d'âge, etc.) connues pour affecter les plages de référence, il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de référence.

Performance

- Dosage : 0-1000 U/L. Les échantillons qui dépassent 1000 U/L doivent être dilués avec un volume égal de solution saline, analysés de nouveau et les résultats multipliés par deux.

- Corrélation : Une étude a été réalisée entre les analyseurs de la série Yumizen 200 et un analyseur similaire utilisant cette méthode, ce qui a abouti à un coefficient de corrélation de 0,999 avec une équation de régression de $y = 1,013x + 4,1$.
- Précision : Des études de précision ont été réalisées à la suite d'une modification des lignes directrices contenues dans le document EP5-T2 du CCNLS.¹²

Dans un Run			Quotidien		
Moy	S.D.	C.V.%	Moy	S.D.	C.V.%
131.6	4.4	3.4	114.4	2.3	2.0
331.5	6.4	1.9	331.3	7.0	2.1

- Sensibilité : La sensibilité du réactif LD liquide a été étudiée en lisant le changement d'absorbance à 340 nm pour un échantillon d'eau désionisée et des échantillons de sérum ayant des activités LD connues. Dix répétitions de chaque échantillon ont été effectuées. Les résultats de cette enquête ont indiqué que sur l'analyseur utilisé, le réactif LD liquide présentait peu ou pas de dérive du réactif sur un échantillon nul. Dans les conditions de réaction décrites, une variation de l'absorbance de 0,0001 équivalait approximativement à 1 U/L d'activité LD.

References

- Tietz, N.W., editor, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Ed., W.B. Saunders Co., 391 (1987).
- Wroblewski, F., LaDue, J.S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90:210 (1955).
- Kubowitz, F., Ott, P., Biochem. 314:94 (1943).
- Wacker, W.E.C., et al, N. Engl. J. Med. 255:449 (1956).
- Henry, R.J. et al, Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD) Harper & Row, pp. 819-831. (1974).
- Amador, E., et al, Clin. Chem. 9:391 (1963).
- Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289 (1977).
- Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B. Saunders Co., 657 (1976).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B. Saunders Co., 657 (1976).
- Kretzler, H.H., et al, Clin. Chim. Acta 9:64 (1964).
- NCCLS Document M29-T2, 2nd Ed. (1991).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D (1975).
- NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Symboles

Use by (YYYY-MM-DD)	LOT Lot and batch code
REF Catalog number	Manufacturer
IVD In vitro diagnostic medical device	Temperature limitation
Consult instructions for use	Rx Only: Prescription Use Only
CE CE mark	EC REP Authorized representative in the European Community

Pointe Liquid Lactate déshydrogénase Kits réactifs

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

REF 12-L7572-100

Manufactured by
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



European Authorized Representative:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Réactifs certifiés

Les réactifs Pointe sont certifiés pour être fabriqués selon des paramètres spécifiés.

Tout produit réactif Pointe ne répondant pas aux spécifications jusqu'à sa date d'expiration indiquée sera corrigé immédiatement sans frais.

Rev. 11/23

P803-L7572-MIN-FR