

Utilisation

Pour la détermination cinétique *in vitro* de l'activité du lactate déshydrogénase dans le sérum à l'aide de l'analyseur Yumizen C560. **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. L'augmentation 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



Le 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 réactionnels et azoture de sodium (0,1%) comme agent de conservation.

Préparation du réactif

Les réactifs sont fournis sous forme 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. Évitez la contamination microbienne. Des études menées par des fabricants ont montré que le réactif est stable pendant 30 jours une fois placé dans le carrousel de réactifs réfrigérés (2-10 °C). Cependant, la stabilité des réactifs peut varier en fonction des conditions individuelles du laboratoire.

Précautions et dangers

1. Ce réactif est destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
2. Tous les échantillons et contrôles doivent être manipulés conformément aux bonnes pratiques de laboratoire en utilisant les précautions appropriées décrites dans le manuel des CDC/NIH, « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, » 2nd ed., 1988, HHS Publication No. (CDC) 88-8395.
3. 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.

Risques :

R1 et R2 : Classifications des dangers : Ne constituent pas une substance ou un mélange dangereux.

Pictogramme : Non requis.

Mention d'avertissement : Non requise.

Mentions de danger : Il ne s'agit pas d'une substance ou d'un mélange dangereux.

Conseils de prudence : Il ne s'agit pas d'une substance ou d'un mélange dangereux.

Reportez-vous à la fiche technique Sécurité de ce produit (SDS-L7572) disponible en appelant le 1-734-487-8300.

Prélèvement et stockage des échantillons

1. Le sérum non hémolysé est recommandé. Les globules rouges contiennent de grandes concentrations de LD⁵.
2. Le sérum doit être séparé rapidement du caillot.
3. 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
4. Ne pas congeler ou exposer le sérum à des températures élevées (37 °C), car cela pourrait inactiver les isoenzymes LD thermolabiles.¹⁰
5. Le prélèvement d'échantillons doit être effectué conformément à la NCCLS M29-T2.¹¹ Aucune méthode ne peut offrir une assurance complète que les échantillons de sang humain ne transmettront pas l'infection. Par conséquent, tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Interférences

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

Pointe Lactate Déshydrogénase Kit réactif

Matériel fournis

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

Matériel requis mais non fourni

1. Analyseur Yumizen C560
2. Yumizen C560 Manuel utilisateur
3. Contrôle chimie, numéro de catalogue C7592-100

Limites

1. Le sérum hémolysé provoquera des taux de LD sériques faussement élevés.
2. 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 pris 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 connues. 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 de contrôle de la qualité doivent être effectuées conformément aux réglementations locales, étatiques et / ou fédérales ou aux exigences d'accréditation.

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

1. Gamme de dosage : 2-1000 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.
2. Corrélation : Une étude a été réalisée entre le Yumizen C560 et un analyseur similaire utilisant cette méthode, ce qui a donné les résultats suivants :

Methode	LDH
N	80
Moyenne LDH (U/L)	223.4
Plage de valeurs (U/L)	88-866
Écart type	153.8
Analyse de régression	$y = 0.964x - 8.1$
Coefficient de corrélation	0.9995

3. Précision : Des études de précision ont été réalisées à la suite d'une modification des lignes directrices contenues dans le document EP5-T2 du NCCLS. ¹²

Échantillon	Sur une journée			Échantillo,	Quoditien		
	LOW	MID	HIGH		LOW	MID	HIGH
N	20	20	20	N	40	40	40
Moyenne	111.1	349.1	628.3	Moyenne	123.6	381.4	696.5
Écart type	1.4	2.8	3.4	Écart type	1.6	5.2	9.6
Coefficient de Variation (%)	1.3%	0.8%	0.5%	Coefficient de Variation (%)	1.3%	1.4%	1.4%

4. Sensibilité 2 SD Limite de Détection (95% Con Int): 2 U/L

Références

1. Tietz, N.W., editor, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Ed., W.B. Saunders Co., 391 (1987).
2. Wroblewski, F., LaDue, J.S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90:210 (1955).
3. Kubowitz, F., Ott, P., Biochem. 314:94 (1943).
4. Wacker, W.E.C., et al, N. Engl. J. Med. 255:449 (1956).
5. Henry, R.J. et al, Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD) Harper & Row, pp. 819-831. (1974).
6. Amador, E., et al, Clin. Chem. 9:391 (1963).
7. Buhl, S.N., et al, Clin. Chem. 23:1289 (1977).
8. Gay, R.J., McComb, R.B., Bowers, G.N., Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B. Saunders Co., 657 (1976).
9. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B. Saunders Co., 657, (1976).



Pointe Lactate Déshydrogénase Kit réactif

HORIBA Instruments Incorporated

5449 Research Drive, Canton, MI 48188
Phone: 734-487-8300; (800) 445-9853



10. Kreutzer, H.H., et al, Clin. Chim. Acta 9:64 (1964).
11. NCCLS Document M29-T2, 2nd Ed. (1991).
12. Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D (1975).
13. NCCLS Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

PARAMETRES DE CHIMIE

Chem:	LDH	No.:	223	Sample Type:	Serum	
Chemistry:	Lactate Dehydrogenase			Print Name:	LDH	
Reaction Type:	Kinetic			Reaction Direction:	Positive	
Pri Wave:	340			Sec Wave:	412	
Unit:	U/L			Decimal:	0	
Blank Time:	0	0		Reaction Time:	56	71
	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.	Diluent	
Standard:	7.3 ul	-- ul	-- ul	R1:	120 ul	-- ul
Decreased:	-- ul	-- ul	-- ul	R2:	30 ul	-- ul
Increased:	-- ul	-- ul	-- ul	R3:	-- ul	-- ul
	<input type="checkbox"/> Sample Blank	<input checked="" type="checkbox"/> Auto Rerun		R4:	-- ul	-- ul
<u>Slope/Offset Adjustment</u>						
	Slope: 1	Offset: 0				

Pointe Lactate Déshydrogénase Kit réactif

PARAMETRES DE CALIBRATION

Calibrator Definition						
Calibrator:	*	Lot No.:			*	
Exp Date:	*					
Carousel		Pos				
Sample Carousel 1	*					
Sample Carousel 2						
Sample Carousel 3						
Reagent/Calibration						
<u>Calibrator</u>	<u>Pos</u>	<u>Lot No</u>	<u>Exp Date</u>	<u>Chem</u>	<u>Conc</u>	<u>Unit</u>
Water	W	*	*	LDH	0	U/L
Calibration Setup						
Chem:	LDH					
<u>Calibration Settings</u>						
Math Model:	K Factor					
Factor:	3505	Replicates:	1			
<u>Acceptance Limits</u>						
Cal Time:	24	Hour				
Slope Diff:	---	SD:	---			
Sensitivity :	---	Repeatability:	---			
Deter Coeff:	---					
<u>Auto Calib.</u>						
<input type="checkbox"/> Bottle Changed	<input type="checkbox"/> Lot Changed	<input type="checkbox"/> Cal Time				
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:			
PC:	ABS:					

Il est recommandé que deux niveaux de matériel témoin soient analysés quotidiennement.

* Indique un paramètre défini par l'utilisateur.



Pointe Lactate Déshydrogénase Kit réactif

HORIBA Instruments Incorporated

5449 Research Drive, Canton, MI 48188
Phone: 734-487-8300; (800) 445-9853



REF 14-L7572-200



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



2°C-8°C



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.

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



Symboles



Use by (YYYY-MM-DD)



Lot and batch code



Catalog number



Manufacturer



Temperature limitation



Consult instructions for use



In vitro diagnostic medical device

Rx Only: Prescription Use Only

Rev: 11/23 P803-L7572-560-FR