



## LDH-P(DGKC)

Code	Nom du produit	Taille de l'emballage
D0031	LDH-P	5 X 25 ml

### UTILISATION PREVUE

Réactif de diagnostic pour la détermination quantitative in vitro de la LDH-P dans le sérum humain par dosage turbidimétrique  
Signification clinique

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme composée de cinq isoenzymes différentes qui catalysent l'interconversion 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 les muscles squelettiques, et des valeurs plus faibles dans les érythrocytes, le pancréas, les reins et l'estomac. L'augmentation de l'activité de la LDH est observée dans diverses pathologies telles que l'infarctus du myocarde, le cancer, les maladies du foie, du sang ou des muscles. Toutefois, en raison de l'absence de spécificité organique, la détermination de ses isoenzymes ou d'autres enzymes telles que la phosphatase alcaline ou le GPT (ALT)/ GOT (AST) est nécessaire pour le diagnostic différentiel.

### PRINCIPE DU TEST

Méthode: UV, cinétique, réaction décroissante, DGKC optimisé  
Longueur d'onde: 340nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm  
Température : 25 °C, 30 °C, 37 °C  
Échantillon: Sérum, héparine ou plasma EDTA  
Linéarité: jusqu'à 1200 U/L sur les systèmes automatisés:  
Sensibilité: La limite inférieure de détection est de 5 U/L.

Pyruvate + NADH + H<sup>+</sup> < LDH > Lactate + NAD<sup>+</sup>

### COMPOSITION DES RÉACTIFS

COMPOSANTS	CONCENTRATION
<b>Réactif 1 :</b>	
Tampon phosphate, pH 7,5	64mmol/L
Pyruvate	0,80mmol/L
<b>Réactif 2 :</b>	
Tampon de Good, pH 9,6	
NADH	1,0mmol/L

### PRÉPARATION DES RÉACTIFS

#### Substrat Start :

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

#### Exemple de départ :

Mélanger 4 parties du réactif 1 avec 1 partie du réactif 2 (= réactif de travail).

### PRÉPARATION DES RÉACTIFS

#### Substrat Start :

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

#### Exemple de départ :

Mélanger 4 parties du réactif 1 avec 1 partie du réactif 2 (= réactif de travail).

### STABILITÉ ET STOCKAGE DES RÉACTIFS

Protéger de la lumière (R2)

Fermer immédiatement après utilisation

Éviter la contamination

Ne pas congeler les réactifs

### Substrat Start :

Stockage : à 2 - 8 °C

Stabilité : jusqu'à la date de péremption indiquée

### Début de l'échantillon (réactif de travail):

Stabilité : à 15 - 25 °C 8 heures

à 2 - 8 °C 5 jours

Le réactif de travail doit être protégé de la lumière!

### STABILITÉ ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS [4]

Sérum, plasma hépariné ou plasma EDTA

Stabilité: à 20 - 25 °C 4 jour

à 2 - 8 °C 6 semaines

Éliminer les échantillons contaminés.

### MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Solution de NaCl (9 g/L)

Équipement général de laboratoire

### PROCÉDURE D'ESSAI MANUELLE

Amener les réactifs et les échantillons à température ambiante.

### Substrat Début

Introduire à la pipette dans des tubes à essai	25 °C, 30 °C	37 °C
Réactif 1	1000 µL	1000 µL
Échantillon	20 µL	10 µL
Mélanger. Incuber pendant environ 1 à 5 minutes. Ajouter ensuite :		
Réactif 2	250 µL	250 µL
Mélanger. Lire l'absorbance initiale contre l'air au bout d'une minute et déclencher le chronomètre. Lire à nouveau l'absorbance après exactement 1, 2 et 3 minutes. Déterminer ΔA/min. pendant la partie linéaire de l'essai.		

### Début de l'échantillon

Introduire à la pipette dans des tubes à essai	25 °C, 30 °C	37 °C
Réactif de travail	1000 µL	1000 µL
Échantillon	20 µL	10 µL
Mélanger. Lire l'absorbance initiale contre l'air au bout d'une minute et déclencher le chronomètre. Lire à nouveau l'absorbance après exactement 1, 2 et 3 minutes. Déterminer ΔA/min. pendant la partie linéaire de l'essai.		

### CALCUL

Avec facteur: (trajet lumineux 1 cm)

LDH [U/L] = ΔA/min x facteur

Facteurs :

### Substrat Début

	25 °C ou 30 °C	37 °C
Facteur à 340 nm	10080	20000
Facteur à 334 nm	10275	20390
Facteur à 365 nm	18675	37060

### Début de l'échantillon

	25 °C ou 30 °C	37 °C
Facteur à 340 nm	8095	16030
Facteur à 334 nm	8250	16345
Facteur à 365 nm	15000	29705

Avec calibrateur :

LDH [U/L] =  $\frac{\Delta A / \text{min échantillon}}{\Delta A / \text{min Calibrateur}}$  Calibrateur d'activité Samplex[U/L]

### CONVERSION DES UNITÉS

U/L x 0,01667 = µkatal/L



## INTERVALLE DE RÉFÉRENCE [6] \*

	25 °C	30 °C	37 °C	Unité
Adultes	< 240	< 346	< 480	[U/L]
	< 4	< 5.77	< 8	[µkat/L]

\* Chaque laboratoire doit vérifier si les intervalles de référence sont transférables à sa propre population de patients et déterminer ses propres intervalles de référence si nécessaire.

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

### LINÉARITÉ, PLAGE DE MESURE

Sur les systèmes automatisés, le test permet de déterminer les activités de LDH jusqu'à 1200 U/L.

En cas de procédure manuelle, le test est adapté aux activités LDH, qui correspondent à une valeur maximale  $\square$ A/min de 0,15 à 340 et 334 nm ou de 0,08 à 365 nm.

Si ces valeurs sont dépassées, l'échantillon doit être dilué de 1 + 10 avec une solution de NaCl (9 g/L) et les résultats sont multipliés par 11.

### SENSIBILITÉ / LIMITE DE DÉTECTION

La limite inférieure de détection est de 5 U/L

### PRÉCISION (à 25 °C)

Intra-essai n = 20	Moyenne [U/L]	SD [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-essais n = 20	Moyenne [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Échantillon 1	144	3.09	2.13
Échantillon 2	248	4.53	1.82
Échantillon 3	492	6.23	1.26

### SPÉCIFICITÉ / INTERFÉRENCES

Aucune interférence jusqu'à:

Acide ascorbique 30mg/dL

Bilirubine 40mg/dL

Triglycérides 2000mg/dL

L'hémolyse interfère car la LDH est libérée par les érythrocytes. Pour plus d'informations sur les substances interférentes, voir Young DS [5].

### COMPARAISON DES MÉTHODES

Une comparaison de LDH-P (y) avec un test disponible dans le commerce (x) sur 78 échantillons a donné les résultats suivants:  
 $y = 1,03 x + 2,13$  U/L ;  $r = 0,999$ .

### CALIBRATION

L'utilisation d'un calibrateur de LDH est facultative.

Nous recommandons le sérum d'étalonnage multi calibrateur.

Cette méthode est traçable au coefficient d'extinction molaire.

### LE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Tous les sérums de contrôle dont les valeurs de LDH ont été déterminées par cette méthode peuvent être utilisés.

Nous recommandons les sérums de contrôle N (sérum de contrôle avec des valeurs dans la plage normale) et de contrôle P (sérum de contrôle avec des valeurs dans la plage anormale).

Chaque laboratoire doit mettre en place des mesures correctives en cas d'écarts dans la récupération des contrôles.

### AUTOMATION

Des adaptations spéciales pour les analyseurs automatisés peuvent être réalisées sur demande.

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (0,95 g/L) comme conservateur. Ne pas avaler! Éviter le contact avec la peau et les muqueuses.
2. Dans de très rares cas, les échantillons de patients atteints

3. de gamma pathie peuvent donner des résultats erronés [7].

4. Veuillez consulter les fiches de données de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation des réactifs de laboratoire.

5. À des fins de diagnostic, les résultats doivent toujours être évalués en fonction des antécédents médicaux du patient, des examens cliniques et d'autres résultats.

6. Réservé à un usage professionnel!

### GESTION DES DÉCHETS

Veuillez vous référer aux exigences légales locales.

### RÉFÉRENCES

1. Thomas L. Diagnostic clinique en laboratoire. 1<sup>st</sup> ed. Francfort : TH-Books Verlagsgesellschaft ; 1998.p.89-94.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology In: Burtis CA, Ashwood ER, éditeurs. Tittz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphie : W.B. Saunders Company ; 1999.617-721.
3. Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie. Recommendations de la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC). Standardisation des méthodes de détermination des activités enzymatiques dans les tissus biologiques. Z Klin Chem Klin Biochem 1972;10:182-92.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1<sup>st</sup> ed. Darmstadt : GIT Verlag ; 2001 ; p.26-7.
5. Young DS. Effets des médicaments sur les tests de laboratoire clinique. 5<sup>th</sup> ed. Volume 1 et 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 assay: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2008 ; 45(9):1240-1243.



