

*Lactate déshydrogénase (LDH)***Lactate déshydrogénase (LDH)-Liquizyme (1+1)
E.C.1.1.1.27.**

REF : LAC-MC-0510 (5X10 ml)

Utilisation

Le réactif liquizyme LDH de NS BIOTEC est conçu pour la détermination diagnostic et quantitative in-vitro de LDH dans le sérum humain sur des systèmes automatisés et manuels.

Rappel

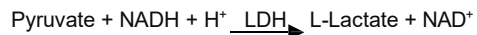
Les enzymes lactates déshydrogénases (LDH) sont largement présentes dans le cœur, le foie, les muscles et les reins. LDH catalyse la conversion du lactate en pyruvate. L'enzyme est une protéine tétramérique et il en existe cinq isoenzymes. Le cœur, les reins, le cerveau et les érythrocytes ont la plus grande portion de LD-1 et LD-2. Quant au foie et aux muscles squelettiques, ils sont plus abondants en LD-5. Une sévère augmentation de LDH est notée lors d'un infarctus du myocarde. Les valeurs maximales sont atteintes 48 heures après le début du myocarde et persiste jusqu'à 10 jours. Une élévation du taux de LDH dans le sérum a également été observé chez les patients souffrants d'anémie mégaloblastique, de carcinome disséminé, de leucémie et de trauma. Une légère augmentation de LDH a été observée dans des cas d'anémie hémolytique, de dystrophie musculaire, d'infarctus pulmonaire, d'hépatite, du syndrome néphrotique et de cirrhose.

Méthode

Méthode cinétique ultraviolette.

Principe de la méthode

Le LDH catalyse la réaction entre le pyruvate et NADH pour former NAD et L-Lactate :



Le taux initial d'oxydation de NADH est directement proportionnel à l'activité catalytique de LDH. Il est déterminé en mesurant la baisse d'absorbance à 340 nm.

Réactifs**Réactif 1 (R1 Tampon)**

Tampon phosphate (pH 7.5)	50 mmol/L
Pyruvate	3.0 mmol/L
Azoture de sodium	8.0 mmol/L

Réactif 2 (R2 Enzyme)

NADH	>0.06 mmol/L
Azoture de sodium	8.0 mmol/L

Pour plus d'informations, se référer à la fiche de données de sécurité du réactif Lactate déshydrogénase.

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon. En cas de blessures sévères, consulter un médecin immédiatement.

Les réactifs (R1) et (R2) contiennent de l'azoture de sodium qui peut réagir avec le cuivre ou le plomb des canalisations.

Préparation du réactif, conservation et stabilité

Tous les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration mentionnée sur les flacons lorsque conservés à 2-8°C. Une fois ouvert, le réactif est stable durant 2 mois à la température indiquée.

La solution de travail peut être préparée en ajoutant des volumes équivalent de R1 et de R2.

Stabilité : 3 semaines à 2-8°C ou 2 jours à 15-25°C.

Détérioration

Ne pas utiliser le réactif liquizyme LDH s'il apparaît turbide ou si l'absorbance de la solution de travail est inférieure à 1.0 à 340 nm. L'incapacité à obtenir des résultats de contrôles dans l'intervalle recommandé peut être un signe de la détérioration du réactif.

Collecte de l'échantillon et conservation

Utiliser du sérum non-hémolysé. L'héparine est le seul anticoagulant accepté. EDTA et le citrate de sodium ont un effet inhibiteur et ne doivent donc pas être utilisés. La demi-vie biologique de LDH dans le sérum est de 10-54 heures.

Stabilité : 6 semaines à 4-8°C, 4 jours à 20-25°C.

Il n'est pas recommandé de geler les échantillons.

Paramètres du système

Longueur d'onde	340 nm (334-365 nm)
Cuvette	1cm
Type de réaction	Cinétique
Sens de la réaction	Décroissant
Échantillon : Réactif rapport	1 : 50
Température	37°C
Temps d'équilibrage	30 secondes
Temps de lecture	1 à 3 minutes
Réglage du zéro	Contre l'air
Limite du blanc	Min 1.00 AU–Max 2.5 AU
Sensibilité	10 U/L
Linéarité	1200 U/L

Procédure

Pipeter dans la cuvette (37°C)

1 ml (ou ajouter 0.5ml R1 + 0.5ml

Solution de travail R2)

Échantillon 20 µl

Mélanger, mesurer une absorbance initiale après 30 secondes et simultanément commencer le chronomètre. Mesurer de nouveau à 1, 2 et 3 minutes. Déterminer le changement d'absorbance moyen par minute ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

Pour calculer l'activité de LDH, utiliser la formule suivante :
 $U/L = 8095 \times \Delta A \text{ 340 nm/min}$

Contrôle de qualité

Des contrôles de sérum dont les concentrations sont connus, aussi bien normal qu'anormal, devraient être réalisés avec chaque test.

Performance de la méthode

Précision

Intra-série (répétabilité)

	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20
Moyenne (U/L)	433	923
SD	6.8	6.64
CV %	1.57	0.72

Inter-série (reproductibilité)

	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20
Moyenne (U/L)	439	935
SD	7.1	6.71
CV %	1.62	0.72

Méthode de comparaison

Une comparaison entre le réactif LDH de NS BIOTEC et un réactif commercial, suivant la même méthodologie, a été réalisée sur 200 sérums humains. Une corrélation de 0.977 a été obtenue.

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection est de 3.59 U/L.

Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration de LDH de 960 U/L. Les échantillons présentant une concentration plus élevée doivent être dilués : 1V+5V en utilisant une solution physiologique saline. Répéter l'essai et multiplier le résultat par 6.

Interférences :

Hémolyse

Une contamination aux érythrocytes élève les résultats puisque l'activité de LDH dans les érythrocytes est 150 fois plus élevées que lorsque comparé avec du sérum normal.

Ictère

Pas d'interférences significative.

Lipémie

Les échantillons lipidiques peuvent causer de fausse baisse. Une dilution de l'échantillon est recommandée.

Anticoagulants

EDTA et citrate peuvent inhiber la réaction

Valeurs recommandées (à 37°C)

Adultes 240-480 U/L 4.0-8.0 mKat/L

Enfants (7-12 ans)

Femmes : <580 U/L < 9.65 mkat/L

Hommes : <764 U/L < 12.7 mkat/L

Prématurés : < 1103 U/L <18.4 mkat/L

Le facteur de conversion pour la température est

0.5 (37 → 25°C) et 0.67 (37 → 30°C).

NS BIOTEC n'interprète pas les résultats de procédures de laboratoire clinique ; l'interprétation des résultats est considérée la responsabilité d'un personnel médical qualifié. Toutes les informations ayant une importance clinique sont appuyées sur des références scientifiques.

Intervalle analytique

10-960 U/L.

Traitement des déchets

Ce produit est fabriqué pour être utilisé dans des laboratoires Professionnels. Consulter la réglementation locale pour la procédure de traitement des déchets.

S56 : Éliminer ce matériel et son emballage dans un contenant de collecte de déchets dangereux ou spéciaux.

S57 : Utiliser un contenant adapté afin d'éviter la contamination de l'environnement.

S61 : Éviter toute élimination dans la nature ; se référer aux fiches de sécurité.

Références

1. Dito WR. Lactate dehydrogenase :A brief review. In : Griffiths JC, ed. Clinical Enzymology. New York :masson publishing USA; 1979:18.
2. Kachmar JF , Moss DW: Enzymes. In Fundamentals of clinical chemistry. NW Tietz, editor, saunders, philadelphia, 1976 pp 652- 6603.
3. Van der heiden C, B AIS, Gerh Ardt W, Rosallsis. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for LDH. Eur J Clinical Chem Clin Biochem . 1994;32:639-655.
4. young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. AACC press, Washington D.C., 1990.
5. Zimmerman HJ, Henery JB : Clinical enzymology. In Clinical diagnosis and management by laboratory methods, 16 th ed., JB henery, editor, saunders, philadelphia, 1979, pp 365-368.

 <p>NS BIOTEC MEDICAL EQUIPMENT 66 Port Said St., Camp Shezar Alexandria – Egypt Tele: 002 03 592 0902 Fax : 002 03 592 0908 Website: www.nsbiotec.com E- mail : info@nsbiotec.com</p>	  <p>CMC Medical Devices & Drugs S.L. C/ Horacio Lengo, 18. 29006. Málaga, Spain</p>
--	---