

LDH BR

REF 1141010

2 x 50 mL

CONTENU

Réactif R1. 2 x 40 mL

Réactif R2. 1 x 20 mL

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

LDH BR

SFBC

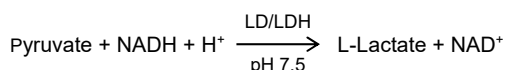
Méthode enzymatique UV

CINETIQUE

PRINCIPE

La Lactate déshydrogénase (LD/LDH) catalyse la réduction du pyruvique en lactate (P-L) en présence de nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) réduit à pH 7,5.

La réaction est mesurée cinétiquement à 340 nm par la variation d'absorbance résultant de l'oxydation du NADH en NAD⁺ proportionnelle à l'activité de LD présente dans l'échantillon.



Ce test a été formulé suivant la méthode standardisée décrite par SFBC.¹

COMPOSITION DES REACTIFS

R1 LDH substrat. Tampon TRIS 100 mmol/L pH 7,5, Pyruvate 2,75 mmol/L, Chlorure de sodium 222 mmol/L.

R2 LDH coenzyme. NADH 1,55 mmol/L.

CONSERVATION ET STABILITE

 Conserver à 2-8°C.

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date de péremption. Conserver les flacons hermétiquement fermés à l'abri de la lumière et éviter les contaminations pendant l'usage.

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration:

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Absorbance du blanc réactif (A) à 340 nm < 1,000 dans une cuve de 1 cm d'épaisseur.

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif de travail: Mélanger 4 mL de réactif **R1** à 1 mL de réactif **R2**.

Stable pendant 2 mois à 2-8°C.

Conserver le réactif de travail à l'abri de la lumière.

ECHANTILLONS

Sérum non hémolytique séparé des cellules aussi vite que possible après collecte. L'usage de l'héparine et du citrate comme anticoagulants a été rapporté comme élevant de l'activité de la LD. La congélation entraîne la baisse de l'activité de l'enzyme.

INTERFERENCES

- La Lipémie (intralipides > 20 g/L) n'interfère pas.
- La Bilirubine (> 40 mg/dL) n'interfère pas.
- L'Hémoglobine (> 4 g/L) peut affecter les résultats.
- D'autres médicaments et substances peuvent interférer³.

MATERIEL AUXILIAIRE

- Photomètre ou colorimètre avec compartiment de mesure thermostable à 30/37°C, capable de lire à 304 nm.
- Chronomètre, enregistreur graphique ou imprimant.
- Cuvettes de 1-cm de trajet optique.
- Pipettes pour mesure et distribution des réactifs et échantillons.

PROCEDURE

1. Pré incuber le réactif de travail, les échantillons et contrôles à la température de réaction 30/37°C.
2. Ajuster le zéro du photomètre avec de l'eau distillée.
3. Pipeter dans les cuves:

Température de Réaction	30/37°C
Réactif de travail	1,0 mL
Echantillon ou contrôle	20 µL

4. Mélanger doucement par retournements. Mettre la cuve dans le compartiment de lecture de l'appareil et chronométrer
5. Incuber pendant 30 secondes et lire l'absorbance initiale.
6. Répéter les lectures exactement à 1,2 et 3 minutes.
7. Calculer la différence entre les absorbances.
8. Calculer la moyenne des différences d'absorbances et en déduire la variation moyenne par minute (ΔA/min).

CALCULS

$$U/L = \Delta A/\text{min} \times 8095$$

Les échantillons ayant une ΔA/min supérieure à 0,150 à 340 nm doivent être dilués dans la proportion de 1:10 avec le sérum physiologique, puis refaire l'analyse. Multiplier les résultats obtenus par 10.

Pour exprimer les résultats en unités SI, appliquer:

$$U/L \times 0,01667 = \mu\text{kat/L}$$



VALEURS DE REFERENCE ⁴

Sérum

Température	37°C	30°C
Adultes	207 - 414 U/L (3,40 – 6,80 µKat/L)	140 - 280 U/L (2,30 – 4,70 µKat/L)

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs de référence.

CONTROLE DE QUALITE

Pour assurer un contrôle de qualité (QC) approprié, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles (normal et anormal), traités comme ayant des valeurs inconnues.

REF 1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL
Évalué comme niveau normal de LDH.

REF 1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Évalué comme niveau élevé de LDH.

Si les valeurs sont en dehors de la plage définie, vérifiez l'instrument, les réactifs et la procédure.

Chaque laboratoire doit établir ses propres plans de contrôle de qualité interne et les mesures correctives, dans le cas où les résultats des contrôles sont en hors des tolérances acceptables.

INTERPRETATION CLINIQUE ^{2,5}

L'activité de l'enzyme trouvée dans la circulation est un mélange de cinq iso enzymes. Chaque organe a un profil de l'iso enzyme caractéristique. De la fuite de ces iso enzymes d'un organe malade il en résulte l'élévation de la LD sérique totale.

Les augmentations des valeurs de la LD deviennent évidentes 8-12 heures après l'infarctus du myocarde et atteignent le maximum 4-5 jours plus tard. Les valeurs élevées dans le sérum sont aussi rencontrées dans le cas de l'embolie pulmonaire et à peu près dans approximativement 1/3 des cas de maladie rénale, spécialement la pyélonéphrite ou la nécrose tubulaire. Dans l'hépatite toxique avec jaunisse, la maladie de Hodgkin et abdominale et dans les cancers du poulmon, les élévations sont particulièrement hautes.

Les augmentations modérées sont aussi observées dans les cas de maladie du foie, d'anémies mégaloblastique et pernecieuse et de dystrophie musculaire progressive.

Les baisses ne sont pas cliniquement importantes.

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES

- **Limite de détection** : 15,73 U/L

- **Linéarité** : Jusqu'à 1500 U/L

- **Précision**:

U/L	Intra-série		Inter-série	
Moyenne	495	879	495	879
SD	4,32	7,34	14	13,5
CV%	0,87	0,83	2,83	1,54
N	10	10	10	10

- **Sensibilité**: 0,152 mA / U/L LDH

- **Corrélation**. Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus:

$$N=52 \quad r=0,99 \quad y=1,031x+3,147$$

Ces caractéristiques analytiques ont été obtenues en utilisant des équipements automatiques. Les résultats peuvent varier en fonction de l'équipement.

NOTES

1. Cette méthode peut être utilisée avec n'importe quel appareil. Toute application sur un appareil devrait être validée par une démonstration de la concordance des résultats avec les caractéristiques analytiques de la méthode. Il est recommandé de valider périodiquement l'appareil. Veuillez contacter le distributeur pour toutes questions relatives à l'application de la méthode.
2. Le diagnostic clinique ne devrait pas se limiter sur les seuls résultats du test, mais intégrer corrélativement les données cliniques et de laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Commission Enzymologie de la Société Française de Biologie Clinique. Ann. Biol. Clin. 40: 123-128 (1982).
2. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de lactato deshidrogenada en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1988; 8:57-61.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.