

REF 10215-4 4 x 29 ml/8 ml

LACTATE DESHYDROGÉNASE (LDH)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 29 ml de réactif R1 et 8 ml de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

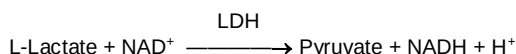
Le réactif LDH EasyRA permet de déterminer la quantité de Lactate déshydrogénase (LDH) dans le sérum et le plasma (avec de l'héparine et du fluorure/oxalate comme anti-coagulants) humain, grâce à « l'analyseur de chimie clinique Medica EasyRA® ». Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La lactate déshydrogénase est constituée de différentes isoenzymes, présentes à des taux élevés en cas d'infarctus du myocarde, d'affections hépatiques et rénales, d'anémies mégaloblastiques et de dystrophie musculaire avancée.¹ Le dosage des taux de LDH et des taux de créatine kinase peut permettre d'établir un diagnostic d'infarctus aigu du myocarde.²

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

La méthode de dosage enzymatique est basée sur les travaux de Wacker,³ et intègre les améliorations apportées par Buhl et Jackson.⁴ La LDH catalyse l'oxydation du lactate en pyruvate, et la réduction du NAD en NADH, comme suit :



La vitesse de formation du NADH (mesurée avec une absorbance à 340 nm) est proportionnelle à l'activité de la lactate déshydrogénase de l'échantillon.

RÉACTIFS

REACTIF R1 (TAMPON REAGISSANT A LA LDH) :

L-Lithium lactate	100 mmol/l
2-méthyl-2-amino-1-propanol	600 mmol/l
(pH 8,8)	

REACTIF R2 (SUBSTRAT REAGISSANT A LA LDH) :

NAD	6 mmol/l
-----	----------

PRECAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
2. Le réactif contient moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITE DU REACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C. Le réactif ouvert, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE/STABILITÉ

Utiliser du plasma ou du sérum clair non hémolysé. Des tubes héparinés ou avec fluorure/oxalate peuvent être utilisés pour le prélèvement de plasma. Passer à la centrifugeuse et extraire le sérum le plus tôt possible après le prélèvement car l'hémolyse est à l'origine de la libération de LDH en quantités importantes. La LDH sérique est stable pendant 3 jours entre 2 et 8 °C. Les valeurs de l'activité de la LDH sont moins élevées avec des échantillons congelés.

PROCÉDURE

MATÉRIEL FOURNI

Cartouche de réactif Medica LDH, REF 10215

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica EasyQC®, Niveau A – Chimie/Électrolytes, REF 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, REF 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, REF 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, REF 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, REF 10661

MODE D'EMPLOI

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif à bord (60 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau des collets de la cartouche après avoir retiré les bouchons et placé la cartouche sur l'analyseur. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test. Utiliser des écouvillons ou pipettes jetables différents pour R1 et R2.

ÉTALONNAGE

Non applicable.

CONTROLE DE QUALITE

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à chaque dosage quotidiennement, à chaque test patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur EasyRA calcule la concentration en lactate-déshydrogénase à partir des modifications de l'absorbance par minute, du volume de l'échantillon, du volume réactionnel total, de la longueur de cheminement (cm) de 0,6 et de l'absorptivité molaire de 6,22.

$$\text{LDH (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorptivité molaire} \times \text{Longueur de cheminement}(\text{cm}) \times \text{Volume de l'échantillon}(\mu\text{l}))}$$

L'activité de la lactate déshydrogénase, mesurée en unité par litre (U/l), représente l'activité enzymatique responsable de la formation de 1 $\mu\text{mol/l}$ de NADH par minute.

VALEURS ATTENDUES⁵

L'intervalle des valeurs de référence pour la lactate déshydrogénase dans le sérum et le plasma est le suivant :

Homme : de 80 à 285 U/l (37 °C)

Femme : de 103 à 227 U/l (37 °C)

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

LIMITES DE LA PROCEDURE (SI LES VALEURS DE L'ECHANTILLON SONT AU-DESSUS DE LA LIMITE SUPERIEURE DE L'INTERVALLE, PAR EXEMPLE)

Si les modifications de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{Min}$) sont supérieures à 0,1082, ce qui correspond à environ 800 U/l, l'analyseur le signal par les lettres « SD » (déplétion du substrat). Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de la lactate déshydrogénase jusqu'à 1 600 U/l.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES⁶

INTERVALLE RAPPORTE

L'intervalle rapporté est compris entre 5 et 800 U/l. Il est compris entre 5 et 1 600 U/l lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

INEXACTITUDE/CORRELATION (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le réactif Lactate déshydrogénase Medica (y) avec l'analyseur EasyRA (y) et un réactif Lactate déshydrogénase semblable (x) avec l'analyseur Roche COBAS MIRA*. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus sur l'analyseur EasyRA versus la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double sur l'analyseur COBAS MIRA.

Nombre d'échantillons	59	Intervalle d'échantillons	5 à 779 U/l
Courbe	0,99	Intersection avec l'axe des Y	8,4
Coefficient de corrélation	0,9980	Équation de régression	$Y = 0,99 \cdot X + 8,4$

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma (y) à l'aide du réactif Medica LDH sur l'analyseur EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma versus la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	47	Intervalle d'échantillons	de 10 à 696 U/l
Courbe	0,9975	Intersection avec l'axe des Y	2,825
Coefficient de corrélation	0,9949	Équation de régression :	$Y = 0,9975 \cdot X - 2,825$

* Cobas Mira est une marque déposée de Roche Diagnostics Operations, INC., Indianapolis, IN.

IMPRECISION (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux du contrôle de qualité U/l	DS intra-série U/l	CV intra-série %
331,5	4,0	1,2
204,5	3,3	1,6
99,5	1,3	1,3

Imprécision totale :

Taux du contrôle de qualité U/l	Imprécision totale DS U/l	Imprécision totale CV %
331,5	7,3	2,2
204,5	4,8	2,4
99,5	1,9	1,9

LINEARITE (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 5 et 800 mmol/l, en fonction de l'équation de régression linéaire $Y = 1,017 \cdot X + 14,48$.

SUBSTANCES INTERFERENTES (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune interférence significative ».

Il existe une interférence significative liée à l'hémoglobine. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 20 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 2 000 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid*).

*Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{7,8}

RÉFÉRENCES

1. Kachmar JF, Moss DW in Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., NW Tietz, editor (W.B Saunders, Eds. Philadelphia USA) 1976: 652.
2. Roe CR et al. J Lab Clin Med 80:557 (1972).
3. Wacker WEC et al, New England J Med 255: 449 (1956)
4. Buhl SN, Jackson KY, Clin. Chem. 24:828 (1978).
5. Henry, RJ, Carman DC, and Winkelman JW. *Clinical Chemistry. Principles and Techniques*. Hagerstown, MD: Harper and Row. pp 819-831 (1974).
6. Documentation de Medica.
7. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
8. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

Paramètres du dosage (LDH) EasyRA

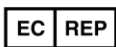
Longueur d'onde (nm)	340
Mode réactionnel	Enzymatique (0)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Non
Blanc de l'échantillon	Non
Modif. max du premier intervalle de l'absorbance	0,055
Durée de la réaction	4,4 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	N/A
Stabilité du réactif à bord	60 jours

Sérum / Plasma

Volume de l'échantillon (µl)	7,0
Volume du diluant (µl)	20
Volume du réactif R1 (µl)	132
Volume du réactif R2 (µl)	34
Emplacements décimaux (par défaut)	0
Unités (valeurs par défaut)	U/l
Facteur de dilution	1:1 (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Linéarité	5 à 800 U/l
Absorptivité molaire	6,22



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands