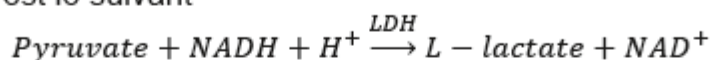


DOCUMENT 7 : extrait de la fiche technique du kit Biolabo LDH (méthode SFBC modifiée)Source : adapté de <http://www.biolabo.fr/>**Principe**

Le schéma réactionnel est le suivant

Le NADH, H⁺ absorbe à 340 nm.**Réactifs**

Falcon R1 : Tampon-substrat	Tampon Tris pH 7,2 Pyruvate Conservateur	80 mmol·L ⁻¹ 1,6 mmol·L ⁻¹
Flacon R2 : Coenzyme	NADH NaCl	≥ 20 mmol·L ⁻¹ 200 mmol·L ⁻¹

Préparation des réactifs : ajouter le contenu du flacon R1 dans le flacon R2.

Procédure opératoire

Porter les réactifs et échantillons à température ambiante

Introduire dans une cuve thermostatée de 1 cm de trajet optique :

- V_{réactif} = 1 mL

Laisser la température s'équilibrer à 30 °C ou 37 °C puis ajouter :

- V_{plasma} = 20 µL

Mélanger. Après 30 secondes, lire l'absorbance initiale à 340 nm puis toutes les minutes pendant 2 min.

Obtention du résultatCalculer la moyenne des variations d'absorbance par minute $\frac{\Delta A}{\Delta t}$.La concentration d'activité catalytique de la LDH dans le plasma, notée $b_{(\text{LDH}; \text{plasma})}$ est déterminée par le calcul suivant :

$$b_{(\text{LDH}; \text{plasma})} = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\epsilon_{\text{NADH}}^{340 \text{ nm}} \times l} \times \frac{V_{\text{réactif}} + V_{\text{plasma}}}{V_{\text{plasma}}} \times 10^6$$

Données :

Compléments sur des grandeurs de l'équation	$\epsilon_{\text{NADH}}^{340 \text{ nm}} = 6300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ $l = \text{trajet optique en cm}$ (cuve de trajet optique 1 cm)
Indication de mesure pour le plasma du patient	$\frac{\Delta A}{\Delta t} = 0,125 \text{ min}^{-1}$
Valeurs physiologiques de la concentration d'activité catalytique de la LDH chez l'adulte (à 37 °C)	[200 à 400] µmol·min ⁻¹ ·L ⁻¹
Données métrologiques pour l'expression du résultat de mesure : Résultat de mesure = valeur mesurée retenue ± incertitude élargie ; le niveau de confiance de l'incertitude élargie est à préciser. L'incertitude élargie (U) est calculée en multipliant l'incertitude type composée (u _c) par le facteur d'élargissement (par exemple k=2 pour un intervalle de confiance, ou niveau de confiance, de 95 %). $u_c = 30 \text{ µmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$	