

Utilisation

Le coffret Autokit 3-HB est un test *in vitro* pour le dosage quantitatif du 3-hydroxybutyrate (3-HB) dans le sérum ou le plasma.

Résumé et caractéristiques du test

Pour une plus grande précision, les dosages des corps cétoniques devraient comporter l'acétone, l'acétoacétate (AcAc) et le 3-hydroxybutyrate (3-HB). Cependant, en pratique, les laboratoires de biologie clinique mesurent les corps cétoniques totaux comme la somme d'AcAc et de 3-HB. Les corps cétoniques sont des substances issues du catabolisme des acides gras dans le foie. Leur concentration dans le sang augmentant en cas d'hyperlipolyse liée aux troubles du métabolisme glucidique, les dosages des corps cétoniques sont utilisés pour le diagnostic du diabète. Les dosages des corps cétoniques sont également pratiqués en chirurgie, comme par exemple la transplantation hépatique, car le ratio de corps cétoniques (AcAc/3-HB) dans le sang artériel reflète la capacité de réserve du foie. Par le biais de réactions enzymatiques cycliques, le réactif Autokit 3-HB permet de mesurer le 3-hydroxybutyrate avec une sensibilité élevée et une grande spécificité.

Réactifs

Coffret Autokit 3-HB

R1a : Tampon 2 x 27 mL Conserver entre +2 °C et +10 °C (Ne pas congeler)
20 mmol/l de tampon phosphate, pH 7,0 contenant 5 UI/ml d'acétoacétate décarboxylase (AADC) de Bacillus et 0,018 % d'azide de sodium.

R1b : Thio-NAD 2 x pour 27 mL Conserver entre +2 °C et +10 °C
4,27 mmol/l de β-thionicotinamide adénine dinucléotide, forme oxydée (Thio-NAD), après reconstitution

Coffret Autokit 3-HB R2

R2a : Diluant 2 x 9 mL Conserver entre +2 °C et +10 °C
0,2 mol/L Good's buffer, pH 9,0, contenant 0,053 % sodium azide.

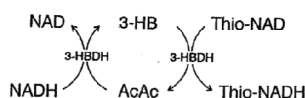
R2b : Enzyme 2 x pour 9 mL Conserver entre +2 °C et +10 °C
3200 UI/ml de 3-Hydroxybutyrate deshydrogénase (3-HBDH) de microorganisme et 2,65 mmol/l de β-nicotinamide adénine dinucléotide disodique, forme réduite (NADH), après reconstitution

Principe de la méthode

Lorsqu'un échantillon est mélangé avec R1, l'AcAc de l'échantillon est transformé en acétone par l'AADC.



Après addition de R2, le 3-HB de l'échantillon est oxydé en présence de 3-HBDH et de Thio-NAD. Cette oxydation déclenche les réactions cycliques. L'acétoacétate de l'échantillon ayant disparu, seule la concentration en 3-HB est déterminée en spectrophotométrie par la mesure du taux de production du Thio-NADH.



Préparation des réactifs

- R1 : Dissoudre un flacon de R1b avec un flacon de R1a.
La solution reconstituée est stable 3 semaines entre +2 °C et +10 °C.
R2 : Dissoudre un flacon de R2b avec un flacon de R2a.
La solution reconstituée est stable 3 semaines entre +2 °C et +10 °C.

Signes physiques ou chimiques d'instabilité

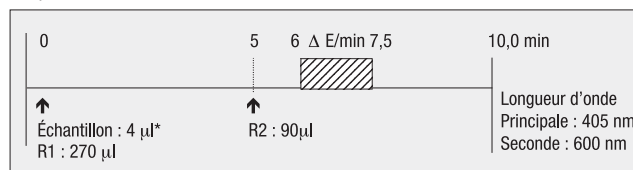
La présence de précipités dans les réactifs ou des valeurs de sérums de contrôle en dehors des limites définies par le fabricant peuvent être le signe d'une instabilité du réactif.

Instruments

Le réactif doit être utilisé sur les automates présents sur le marché. Consulter le manuel d'instruction pour la description du mode opératoire et les spécifications de l'appareil. Il est indispensable que l'utilisateur procède à une validation dans son laboratoire en pratiquant un nombre suffisant de mesures sur des échantillons appropriés de sérums de contrôle ou de patients.

Mode opératoire standard

Température : +37 °C



*Avec une méthode de sensibilité élevée, le volume d'échantillon est de 17 µL.

Le mode opératoire standard ci-dessus est fourni à titre d'exemple. Les adaptations de l'automate sont disponibles sur demande.

Résultats

Les résultats finals sont calculés de façon automatique et imprimés. Les résultats donnent la concentration en µmol/l.

Valeurs usuelles

0–74 µmol/l dans le sérum ou le plasma.²

Restrictions d'emploi

Si la concentration en 3-HB de l'échantillon dépasse la limite supérieure de linéarité, diluer l'échantillon avec du soluté physiologique, refaire la mesure et multiplier le résultat par le facteur de dilution.

Précautions d'emploi

- Échantillons
 - Effectuer le dosage du 3-HB immédiatement après le prélèvement sanguin. Si le dosage doit être différé, conserver les échantillons au réfrigérateur ou au congélateur.
 - L'hémolyse a une légère influence sur le dosage en donnant des résultats faussement négatifs.
 - L'acide ascorbique et la bilirubine n'ont pas d'influence significative sur le dosage.
- Les substances interférentes comme l'héparine, le citrate, l'oxalate, l'EDTA et le fluorure de sodium sont sans influence sur les mesures lorsqu'elles sont utilisées aux concentrations respectives habituelles.

Performances

Sensibilité

- Le dosage d'eau purifiée donne une absorbance (Δ E/min) maximale de 0,03.
- Le dosage d'une solution standard de concentration donnée (200 µmol/l 3-HB) donne une absorbance (Δ E/min) de 0,02–0,40 contre le blanc.

Spécificité

Lors du dosage d'un échantillon de concentration connue, la valeur obtenue se situe dans l'intervalle de ± 10 % de la concentration connue.

Précision

Lors d'un dosage répété 5 fois dans une série, le CV se situe dans les 5 %.

Domaine de mesure

Concentration en 3-HB :
Méthode standard : 3–1000 µmol/l.
Méthode à sensibilité élevée : 0,2–200 µmol/l.

Corrélation

Échantillon	Sérum	Plasma
Coefficient de corrélation	r = 0,999 (n = 55)	r = 0,999 (n = 52)
Droite de régression	y = 1,02x - 3,2	y = 0,99x - 6,3
y	Autokit 3-HB (Méthode standard, µmol/l)	
x	Produit du fabricant A (Méthode enzymatique, µmol/l)	

HP 417-73501
0524D3

Avertissements et précautions d'emploi

- Utilisation exclusive pour diagnostic *in vitro*.
- Ne doit pas être utilisé *in vivo* chez l'homme ou l'animal.
- Ne pas utiliser les réactifs de ce coffret pour d'autres applications que celles décrites dans la notice. La performance ne peut être assurée si les réactifs sont utilisés selon d'autres utilisations.
- Conserver les réactifs selon les conditions indiquées. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption mentionnée sur l'étiquette de chaque flacon. Ne pas utiliser de réactifs congelés par inadvertance. De tels réactifs peuvent donner des résultats erronés.
- Après ouverture, il est recommandé d'utiliser les réactifs immédiatement. Pour conserver les réactifs après ouverture, boucher les flacons et les garder selon les conditions indiquées.
- Ne pas utiliser les emballages et les autres matériels du coffret pour un quelconque usage autre que celui ici décrit.
- Veiller à ne pas vous couper avec l'opercule en aluminium lors de l'ouverture du flacon.
- Utiliser le calibreteur Wako Ketone Body Calibrator pour la calibration. Lire attentivement la notice du calibreteur avant utilisation.
- Le tampon et le diluant contiennent de l'azide de sodium comme stabilisant. L'azide de sodium peut réagir avec les conduites en plomb ou en cuivre et former des composés explosifs. Bien que le réactif contienne d'infimes quantités d'azide de sodium, les canalisations doivent être nettoyées à grande eau, lors de l'élimination des réactifs.
- En cas de contact avec la bouche, les yeux ou la peau, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau. Consulter un médecin si nécessaire.
- L'élimination des réactifs doit se faire selon les exigences réglementaires locales ou nationales en vigueur.

Classification selon le règlement (CE) n° 1272/2008

- Le produit n'est pas classifié selon le règlement CLP.
- Le produit ne contient pas de SVHC sous REACH Article 57 >0,1%

Composants dangereux déterminants pour l'étiquetage (R1b)

- Adenosine 5'-(trihydrogen diphosphate), 5'--5'-ester with 3-(aminothioxomethyl)-1-β-D-ribofuranosylpyridinium-ate

Pictogrammes de danger



Attention

GHS07

Mentions de danger

- Nocif en cas d'ingestion, de contact cutané ou d'inhalation.
- Provoque une irritation cutanée.
- Peut irriter les voies respiratoires.

Conseils de prudence

- Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
- Se laver soigneusement après manipulation.
- Porter des gants de protection / des vêtements de protection.
- EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.

Composants dangereux déterminants pour l'étiquetage (R2a)

- Hydroxyde de sodium

Pictogrammes de danger



Attention

GHS07

Mentions de danger

- Provoque une irritation cutanée.
- Provoque une sévère irritation des yeux.

Conseils de prudence

- Se laver soigneusement après manipulation.
- Porter un équipement de protection des yeux / un équipement de protection du visage.
- EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau [ou se doucher].
- EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
- Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.

Composants dangereux déterminants pour l'étiquetage (R2b)

- 3-Hydroxybutyrate dehydrogenase

Pictogrammes de danger



Danger

GHS08

Mentions de danger

- Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.

Conseils de prudence

- Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
- [Lorsque la ventilation du local est insuffisante] porter un équipement de protection respiratoire.
- EN CAS D'INHALATION: transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.
- En cas de symptômes respiratoires: Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.

Contrôle de qualité

Un programme de contrôle de qualité est recommandé pour tout laboratoire de biologie clinique.

Références

1. Hirano, T. Modern Med. Lab., 19 (13), 1113 - 1117 (1991), en Japonais.
2. Hidaka, H. et Shigeta, Y., Jpn. J. Clin. Med., 53, supplément, 603 - 605 (1995), en Japonais.
3. Fritzsche, I., Bührdel, P., Melcher, R., Böhme, H.-J. Stability of Ketone Bodies in Serum in Dependence on Storage Time and Storage Temperature, Clin. Lab. 47, 399 - 403 (2001).

Information commerciale

Référence	Produit	Conditionnement
417-73501	Autokit 3-HB R1 Set	R1a : 2 x 27 ml R1b : 2 x pour 27 ml
413-73601	Autokit 3-HB R2 Set	R2a : 2 x 9 ml R2b : 2 x pour 9 ml
412-73791	Ketone Body Calibrator • 300 (3-HB : 300 µmol/l)	CAL: 4 x 5 ml