

Zamýšlené použití

Autokit Total Ketone Bodies test je *in vitro* test ke kvantitativnímu stanovení celkového obsahu ketoláték [acetacetát (AcAc) + 3-hydroxybutyrát (3-HB)] v séru nebo plazmě.

Shrnutí a vysvětlení testu

Testy ketoláték by měly (přesněji) zahrnovat aceton, AcAc a 3-HB. V klinických laboratořích se však běžně měří celkový obsah ketoláték jako součet AcAc a 3-HB. Ketolátky jsou látky, které se metabolicky vytvářejí v játrech z mastných kyselin. Testy množství ketoláték se používají k diagnostice diabetu, protože jejich koncentrace v krvi se zvyšuje při hyperlipolýze v důsledku poruchy metabolismu cukru.

Testy ketoláték se používají také v chirurgii například při transplantaci jater, protože poměr ketoláték (AcAc/3-HB) v arteriální krvi odráží rezervní kapacitu jater. Autokit Total Ketone Bodies je reagentie k měření celkového množství ketoláték s vysokou citlivostí a specifícností pomocí cyklických enzymatických reakcí. Koncentraci AcAc lze vypočítat pomocí hodnoty 3-HB získané pomocí prostředku Autokit 3-HB¹.

Reagentie

Autokit Total Ketone Bodies R1 Set

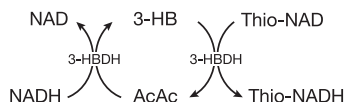
R1a: Pufr	2 x 27 ml	Składujte při teplotě 2–10 °C (nezmrazovat) 20 mmol/l fosfátového pufru, pH 7,0, obsahujícího 0,018 % azidu sodného.
R1b: Thio-NAD	2 x pro 27 ml	Składujte při teplotě 2–10 °C 4,27 mmol/l β-thionikotinamidadeninukleotidu, oxidované formy (Thio-NAD), při rekonstituci.

Autokit 3-HB R2 Set

R2a: Redidlo	2 x 9 ml	Składujte při teplotě 2–10 °C 0,2 mol/l Goodova pufru, pH 9,0, obsahujícího 0,053 % azidu sodného.
R2b: Enzym	2 x pro 9 ml	Składujte při teplotě 2–10 °C 3200 MJ/ml 3-hydroxybutyrátdehydrogenázy (3-HBDH) z <i>Alcaligenes</i> a 2,65 mmol/l β-nikotinamidadeninukleotidu disodného, redukovaná forma (NADH), při rekonstituci.

Princip metody

Po smíchání vzorku s R1 a R2 se AcAc a 3-HB ve vzorku přemění na 3-HB a AcAc za přítomnosti 3-HBDH, NADH a Thio-NAD. 3-HB a AcAc, které se vytvářejí při enzymatických reakcích, se pak přeměňují na AcAc a 3-HB. Během těchto cyklických reakcí vzniká NAD a Thio-NADH. Spektrofotometrickým měřením rychlosti produkce Thio-NADH se stanoví koncentrace celkových ketoláték ve vzorku.



Příprava reagentie

R1: Rozpusťte jednu lahvičku R1b s jednou lahvičkou R1a. Rekonstituovaný roztok je stabilní po dobu 3 týdnů při teplotě 2–10 °C.

R2: Rozpusťte jednu lahvičku R2b s jednou lahvičkou R2a. Rekonstituovaný roztok je stabilní po dobu 3 týdnů při teplotě 2–10 °C.

Fyzikální nebo chemické známky nestability

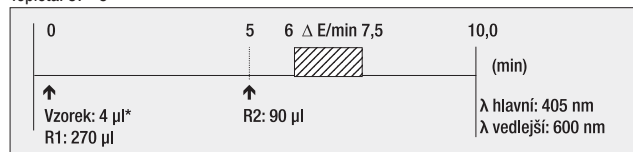
Známkou nestability reagentie může být přítomnost precipitátů v reagentních nebo hodnoty kontrolních sér mimo přijatelný rozsah udávaný výrobcem.

Nástroje

Reagentie je určena k použití na komerčně dostupných automatických analyzátoch. Popis provozu přístroje a příslušné specifikace naleznete v návodu k obsluze. Nezbytná je validace uživatelem v praxi na pracovišti zákaznickou formou měření vhodných kontrolních sér nebo sér pacientů v dostatečném počtu.

Standardní postup

Teplota: 37 °C



¹V případě metody s vysokou citlivostí je objem vzorku 17 µl.

Výše uvedený standardní postup je příklad. Aplikace s přístroji jsou k dispozici na vyžádání.

Výsledky

Konečné výsledky se automaticky vypočítají a vytisknou v koncentraci. Výsledky jsou uvedeny v µmol/l.

Očekávané hodnoty

28–120 µmol/l v séru nebo plazmě².

Omezení postupu

Jestliže překročí celková koncentrace ketoláték ve vzorku horní mez linearity, zředit vzorek fyziologickým roztokem, opakujte test a výsledek vynásobte koeficientem ředění.

Bezpečnostní opatření týkající se postupu

- Vzorky
 - Z důvodu nestability AcAc ve vzorku proveďte test celkového množství ketoláték ihned po odběru krve. Pokud není možné provést okamžitý test, uchovávejte vzorky v chladničce nebo mrazničce. Po oddělení krevních buněk bezprostředně po odběru krve je AcAc stabilní po dobu 2 hodin při pokojové teplotě a po dobu 3 dnů při teplotě -20 °C3.
 - Hemolýza poskytuje mírně falešně negativní výsledky.
 - Kyselina askorbová a bilirubin nemají na test významný vliv.
- Interferující látky Heparin, citrát, oxalát, EDTA a fluorid sodný neovlivňují měření, pokud jsou použity v obvyklém množství.

Údaje o výkonu

Citlivost

- Jestliže se jako vzorek použije čistěná voda, je změna absorbance ($\Delta E/\text{min}$) 0,03 nebo méně.
- Jestliže se jako vzorek použije standardní roztok (200 µmol/l 3-HB), je změna absorbance proti slepému vzorku ($\Delta E/\text{min}$) 0,02–0,40.

Specifita

Při testu vzorku o známé koncentraci se naměřená hodnota pohybuje v rozmezí ± 10 % známé koncentrace.

Přesnost

Je-li vzorek testován pětkrát v jedné sérii zpracování, je CV v rozmezí 5 %.

Měřitelný rozsah

Celková koncentrace ketoláték:
Standardní metoda: 3–1 000 µmol/l.
Metoda o vysoké citlivosti: 0,2–200 µmol/l.

Korelace

Vzorek	Sérum	Plazma
Korelační koeficient	$r = 0,999$ (n = 55)	$r = 0,999$ (n = 52)
Regresní rovnice	$y = 0,98x - 5,1$	$y = 1,02x - 6,4$
y	Autokit Total Ketone Bodies (standardní metoda, µmol/l)	
x	Produkt společnosti A (Enzymatická metoda, µmol/l)	

Varování a bezpečnostní opatření

- K diagnostickému použití *in vitro*.
- U lidí a zvířat se nesmí používat vnitřně.
- Výše popsané reagentie nepoužívejte k jiným postupům, než jsou popsány v tomto dokumentu. Účinnost nelze zaručit, pokud jsou reagentie použity při jiných postupech nebo k jiným účelům.
- Reagentie skladujte za stanovených podmínek. Reagentie nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítku každé nádoby reagentie
- Nepoužívejte omylem zmrazené reagentie. Takové reagentie mohou poskytovat chybné výsledky.
- Po otevření reagentií je doporučeno je okamžitě použít. Při skladování otevřených reagentií uzavřete lahvičky a uchovávejte je za specifikovaných podmínek.
- Nepoužívejte nádoby a další materiály v soupravě k jiným účelům, než jsou popsány v tomto dokumentu.
- Při odstraňování hliníkového uzávěru z lahvičky dbejte, abyste se o něj neporézali.
- Ke kalibraci použijte Ketone Body Calibrator • 300. Před použitím si pozorně přečtěte návod k použití v balení kalibrátoru.
- Pufr a ředidlo obsahují jako stabilizátor azid sodný. Azid sodný může reagovat s olověnými nebo měděnými trubkami a vytvářet výbušné sloučeniny. Přestože reagentie obsahují nepatrné množství azidu sodného, je třeba při jejich likvidaci dobře propláchnout odpadní trubičky velkým množstvím vody.
- Pokud se reagentie dostanou do úst, očí nebo na kůži, okamžitě je omyjte velkým množstvím vody. V případě potřeby vyhledejte lékařskou pomoc.
- Při likvidaci reagentií postupujte v souladu s místními nebo národními předpisy.

Označování podle nařízení (ES) č. 1272/2008

- Výrobek je klasifikován a označen podle nařízení CLP.
- Podle nařízení REACH, článek 57 >0,1%, výrobek neobsahuje žádné látky považované za zvláště nebezpečné (SVHC).

Složky podléhající označení určujícímu nebezpečnost (R1b)

- Adenosin 5'-(trihydrogendifosfát), 5'..5'-ester s 3-(aminothioxomethyl)-1-β-D-ribofuranosylpyridinium--átem

Výstražné piktogramy



Varování

GHS07

Věty nebezpečnosti

- Zdraví škodlivý při požití, při styku s kůží nebo při vdechnutí.
- Způsobuje podráždění kůže.
- Může způsobit podráždění dýchacích cest.

Preventivní prohlášení

- Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/výpary/aerosol.
- Po manipulaci s přípravkem se důkladně omyjte.
- Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv.
- Dojde-li k expozici nebo jste znepokojeni: Zavolejte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM/lékaře.

Nebezpečné složky podléhající označení (R2a)

- Hydroxid sodný

Výstražné piktogramy



Varování

GHS07

Věty nebezpečnosti

- Způsobuje podráždění kůže.
- Způsobuje vážné podráždění očí.

Preventivní prohlášení

- Po manipulaci s prostředkem se důkladně umyjte.
- Používejte ochranu očí/obličej.
- PŘI ZASAŽENÍ KŮŽE (nebo vlasů): Okamžitě si svlékněte veškerý kontaminovaný oděv. Opláchněte kůži vodou [nebo se osprchuje].
- PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Pokud jsou přítomny kontaktní čočky a lze je snadno vyjmout, vyjměte je. Pokračujte v oplachování.
- Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc.

Nebezpečné složky podléhající označení (R2b)

- 3-hydroxybutyrátdehydrogenáza

Výstražné symboly



Nebezpečí

GHS08

Věty nebezpečnosti

- Při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže.

Preventivní prohlášení

- Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/výpary/aerosol.
- [V případě nedostatečného větrání] používejte ochranu dýchacích cest.
- PŘI VDECHNUTÍ: Odved'te postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlí pro dýchání.
- Při respiračních příznacích: Zavolejte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM/lékaře.

Kontrola kvality

Pro všechny klinické laboratoře se doporučuje program kontroly kvality.

Odkazy

1. Hirano, T. Modern Med. Lab., 19 (13), 1113-1117 (1991), in Japanese.
2. Hidaka, H. and Shigeta, Y., Jpn. J. Clin. Med., 53, supplementary issue, 603-605 (1995), in Japanese.
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)

Informace k objednávání

Kódové č.	Výrobek	Balení
415-73301	Autokit Total Ketone Bodies R1 Set (Autokit T-KB R1 Set)	R1a: 2 x 27 ml R1b: 2 x pro 27 ml
413-73601	Autokit 3-HB R2 Set	R2a: 2 x 9 ml R2b: 2 x pro 9 ml
412-73791	Ketone Body Calibrator • 300 (3-HB: 300 μmol/L)	CAL: 4 x 5 ml