

Usò previsto

L'Autokit Total Ketone Bodies è un test *in vitro* per la determinazione quantitativa dei corpi chetonici totali [acetacetato (AcAc) e 3-idrossibutirrato (3-HB)] nel siero o nel plasma.

Sintesi e spiegazione del test

In teoria, i test per i corpi chetonici dovrebbero includere acetone, AcAc e 3-HB. Tuttavia, la prassi più diffusa nei laboratori clinici prevede di determinare i corpi chetonici totali come somma di AcAc e 3-HB. I corpi chetonici sono sostanze prodotte dal metabolismo degli acidi grassi nel fegato. I test per i corpi chetonici sono usati per diagnosticare il diabete: la concentrazione nel sangue dei corpi chetonici, infatti, aumenta per via dell'iperlipolisi riconducibile ai disturbi nel metabolismo degli zuccheri.

I test per i corpi chetonici sono inoltre usati in ambito chirurgico, ad esempio per il trapianto di fegato: il rapporto tra i corpi chetonici (AcAc/3-HB) nel sangue arterioso, infatti, riflette la capacità di riserva epatica. L'autokit per i corpi chetonici totali è un reagente che misura i corpi chetonici totali mediante reazioni enzimatiche cicliche; è caratterizzato da alta sensibilità e alta specificità. La concentrazione di AcAc si può calcolare a partire dal valore 3-HB ottenuto con l'autokit 3-HB¹.

Reagenti

Set Autokit Total Ketone Bodies R1

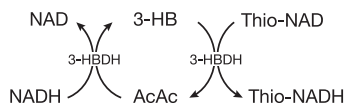
R1a: tampone	2 x 27 mL	Conservare a temperature comprese tra 2 e 10 °C (non congelare)
	20 mmol/L di tampone fosfato, pH 7,0 e 0,018% di sodio azide.	
R1b: Thio-NAD	2 x 27 mL	Conservare a temperature comprese tra 2 e 10 °C
	4,27 mmol/L di β-nicotinammide adenina dinucleotide in forma ossidata (Thio-NAD) ricostituito.	

Set Autokit 3-HB R2

R2a: diluente	2 x 9 mL	Conservare a temperature comprese tra 2 e 10 °C
	0,2 mol/L di tampone di Good, pH 9,0 e 0,053% di sodio azide.	
R2b: enzima	2 x 9 mL	Conservare a temperature comprese tra 2 e 10 °C
	3200 IU/mL di 3-idrossibutirrato deidrogenasi (3-HBDH) da Alcaligenes e 2,65 mmol/L di β-nicotinammide adenina dinucleotide, sale disodico in forma ridotta (NADH), ricostituito.	

Principio del metodo

Quando il campione viene miscelato con R1 ed R2, i corpi chetonici AcAc e 3-HB al suo interno vengono convertiti rispettivamente in 3-HB e AcAc in presenza di 3-HBDH, NADH e tio-NAD. A questo punto, i corpi chetonici 3-HB e AcAc prodotti durante le reazioni enzimatiche vengono convertiti rispettivamente in AcAc e 3-HB. Nel corso di queste reazioni cicliche si ottengono NAD e Thio-NADH. Misurando spettrofotometricamente il tasso di produzione di Thio-NADH è possibile determinare la concentrazione dei corpi chetonici totali del campione.



Preparazione del reagente

- R1: Dissolvere un flacone di R1b con un flacone di R1a. La soluzione ricostituita è stabile per 3 settimane a temperature comprese tra 2 e 10 °C.
- R2: Dissolvere un flacone di R2b con un flacone di R2a. La soluzione ricostituita è stabile per 3 settimane a temperature comprese tra 2 e 10 °C.

Indicazioni fisiche o chimiche di instabilità

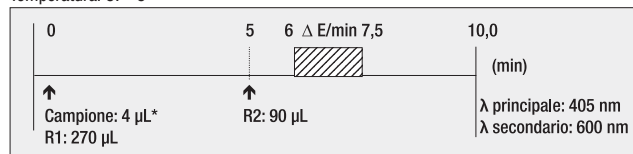
La presenza di precipitati all'interno dei reagenti o di valori dei sieri di controllo al di fuori dell'intervallo accettabile del produttore può essere un'indicazione dell'instabilità dei reagenti.

Strumenti

Il reagente è progettato per gli analizzatori automatici disponibili in commercio. Per il funzionamento e le specifiche dello strumento si rimanda al manuale operativo. È indispensabile che la convalida da parte dell'utilizzatore avvenga all'interno del suo laboratorio eseguendo un numero adeguato di misurazioni del controllo o di un numero sufficiente di sieri di pazienti.

Procedura standard

Temperatura: 37 °C



*Per il metodo ad alta sensibilità, il volume del campione è pari a 17 µL.

La procedura standard sopra esposta è solo un esempio. Su richiesta, sono disponibili applicazioni relative agli strumenti.

Risultati

I risultati finali vengono calcolati e stampati in automatico, in concentrazione. I risultati sono espressi in µmol/L.

Valori normali

28-120 µmol/L nel siero o nel plasma².

Limiti della procedura

Quando la concentrazione dei corpi chetonici totali di un campione supera il limite massimo di linearità occorre diluire il campione con soluzione salina, ripetere il test e moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precauzioni relative alla procedura

- Campioni
 - Eseguire il test per i corpi chetonici totali subito dopo il prelievo del sangue, vista l'instabilità di AcAc nel campione. Se non è possibile eseguire subito il test, conservare i campioni nel frigorifero o nel congelatore. Alla separazione delle cellule ematiche, subito dopo il prelievo del sangue, AcAc è stabile per 2 ore a temperatura ambiente e per 3 giorni a -20 °C3.
 - L'emolisi determina, almeno in parte, risultati falsamente negativi.
 - L'acido ascorbico e la bilirubina non influiscono in maniera significativa sul test.
- Sostanze interferenti, eparina, citrato, ossalato, EDTA e fluoruro di sodio, non influiscono sulle misurazioni, se vengono usate in quantità normali.

Dati di prestazione

Sensibilità

- Se si utilizza acqua purificata come campione, la variazione dell'assorbanza (ΔE/min) è pari o inferiore a 0,03.
- Se si utilizza una soluzione standard (200 µmol/L 3-HB) come campione, la variazione dell'assorbanza (ΔE/min) è pari a 0,02-0,40 rispetto al bianco reagente.

Specificità

Quando si sottopone a un test un campione a concentrazione nota, il valore misurato è compreso nel ±10% della concentrazione nota.

Precisione

Quando un campione viene sottoposto a test per 5 volte di seguito, il coefficiente di variazione è inferiore al 5%.

Intervallo misurabile

Concentrazione dei corpi chetonici totali
Metodo standard: 3-1000 µmol/L.
Metodo ad alta sensibilità: 0,2-200 µmol/L.

Correlazione

Campione	Siero	Plasma
Coefficiente di correlazione	r = 0,999 (n = 55)	r = 0,999 (n = 52)
Equazione di regressione	y = 0,98x - 5,1	y = 1,02x - 6,4
y	Autokit Total Ketone Bodies (Metodo standard, µmol/L)	
x	Un prodotto dell'azienda A (Metodo enzimatico, µmol/L)	

HP 415-73301
0624D1

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Non usare internamente in esseri umani e animali.
- Non usare i reagenti sopra menzionati in procedure diverse da quelle appena descritte. Usando i reagenti in procedure diverse o per scopi diversi non è possibile garantirne le prestazioni.
- Conservare i reagenti alle condizioni specificate. Non usare i reagenti una volta superata la data di scadenza riportata sull'etichetta di ciascun recipiente.
- Non usare reagenti che sono stati congelati per errore. Questi potrebbero determinare risultati falsati.
- All'apertura dei reagenti si consiglia di usarli immediatamente. Se è necessario conservare dei reagenti aperti, chiudere i flaconi e rispettare le condizioni specificate.
- Non usare i recipienti e gli altri materiali del kit per scopi diversi da quelli appena descritti.
- Fare attenzione a non tagliarsi con il tappo in alluminio quando lo si toglie dalla fiala.
- Usare il Ketone Body Calibrator di Wako per la calibrazione. Leggere attentamente il foglio di istruzioni inserito nella confezione del calibratore prima dell'uso.
- Il tampone e il diluente contengono sodio azide, che funge da stabilizzatore. Questa sostanza può reagire con le tubature di rame e piombo e formare dei composti esplosivi. Anche se i reagenti contengono quantità ridotte di sodio azide, quando li si smaltisce occorre risciacquare gli scarichi con grandi quantità di acqua.
- Se i reagenti entrano in contatto con bocca, occhi o pelle, lavare immediatamente la zona interessata con grandi quantità di acqua. Se necessario, consultare un medico.
- Quando si smaltiscono i reagenti, rispettare le normative locali o nazionali.

Etichettatura ai sensi del regolamento (CE) n. 1272/2008

- Il prodotto è classificato ed etichettato ai sensi del regolamento CLP.
- Il prodotto non contiene sostanze SVHC ai sensi del REACH, art. 57 > 0,1%.

Componenti pericolosi dell'etichettatura (R1b)

- Adenosina 5'-(triidrogeno difosfato), 5'...5'-estere con 3-(amminotiossometil)-1-β-Dribofuranosilpiridinio--ato

Pittogrammi di pericolo



Avvertenza

GHS07

Indicazioni di pericolo

- Nocivo se ingerito, se a contatto con la pelle, se inalato.
- Provoca irritazione cutanea.
- Può irritare le vie respiratorie.

Indicazioni di precauzione

- Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.
- Lavarsi accuratamente dopo l'uso.
- Indossare guanti / indumenti protettivi.
- In caso di esposizione o di possibile esposizione: contattare un CENTRO ANTIVELENI / un medico.

Componenti pericolosi dell'etichettatura (R2a)

- Idrossido di sodio

Pittogrammi di pericolo



Avvertenza

GHS07

Indicazioni di pericolo

- Provoca irritazione cutanea.
- Provoca grave irritazione oculare.

Indicazioni di precauzione

- Lavarsi accuratamente dopo l'uso.
- Indossare uno schermo facciale / una protezione per gli occhi.
- IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].
- IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
- Se l'irritazione degli occhi persiste: richiedere assistenza medica / consultare un medico.

Componenti pericolosi dell'etichettatura (R2b)

- 3-idrossibutirrato deidrogenasi

Pittogrammi di pericolo



Pericolo

GHS08

Indicazioni di pericolo

- Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

Indicazioni di precauzione

- Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.
- [In caso di ventilazione insufficiente] indossare un apparecchio di protezione respiratoria.
- IN CASO DI INALAZIONE: portare la persona all'aria aperta e tenerla in una posizione che favorisca la respirazione.
- In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI / un medico.

Controllo della qualità

Si consiglia di adottare un programma di controllo di qualità in tutti i laboratori clinici.

Riferimenti

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)

Informazioni per ordinare

N. codice	Prodotto	Confezione
415-73301	Autokit Total Ketone Bodies R1 (Autokit T-KB R1)	R1a: 2 x 27 mL R1b: 2 x 27 mL
413-73601	Autokit 3-HB R2	R2a: 2 x 9 mL R2b: 2 x 9 mL
412-73791	Ketone Body Calibrator • 300 (3-HB: 300 µmol/L)	CAL: 4 x 5 mL