

KIT DE DOSAGE DU CITRATE SEMINAL

REF 061S – Kit pour 2x15 mesures

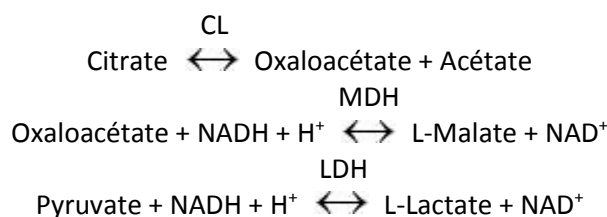


UTILISATION PREVUE & DOMAINE D'APPLICATION

Le Kit de dosage du citrate **Biosentec** est utilisé afin de déterminer la citraturie d'un échantillon de plasma séminal (voir paragraphe « Echantillon »). Le citrate est un acide tricarboxylique, nécessaire à la lubrification du canal éjaculateur. Chez le sujet normal, la concentration en citrate se situe autour des 20 mM. Une augmentation de la citraturie s'observe par exemple au cours d'une inflammation ou infection de la prostate, une diminution s'il y a obstruction du canal déférent de la prostate. Le suivi de la concentration en citrate donne donc une information sur l'état de cette glande.

RESUME

Pour son dosage, le citrate est transformé en Oxaloacétate, puis en L-Malate en oxydant le NADH en NAD :



Le Citrate est réduit en Oxaloacétate en présence de la Citrate Lyase. Puis, l'Oxaloacétate est réduit en L-Malate par la Malate Déshydrogénase, en oxydant le NADH. De même, le Pyruvate, produit de la décarboxylation naturelle de l'Oxaloacétate est réduit par la L-Lactate Déshydrogénase, en L-Lactate, en oxydant le NADH. La quantité de NADH dégradé est proportionnelle à la quantité de Citrate initialement présente dans l'échantillon.

REACTIFS

REACTIF N°1	Tampon Glycylglycine	50mmol/L	30mL
REACTIF N°2	NADH	3mmol/L	6mL
REACTIF N°3	MDH et LDH	>500 et >250 U	0.6mL
REACTIF N°4	CL	>10U	2 doses
<i>A reconstituer chacune avec 0,32mL d'eau désionisée.</i>			
SOLUTIONS CONTROLES BAS	Citrate	Voir étiquette	3mL
SOLUTIONS CONTROLES NORMAL	Citrate	Voir étiquette	3mL

VALEURS USUELLES

Entre 13 et 46 mM de Citrate dans le plasma séminal.

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse un intervalle de référence tenant compte de la population étudiée.

STABILITE ET CONSERVATION

Si l'emballage extérieur est détérioré, vérifier que les flacons sont intacts. Dans ce cas, ils peuvent être utilisés. Dans le cas contraire, contacter Biosentec.

Fermés et stockés entre 2 et 8°C, les réactifs sont stables jusqu'à la date inscrite sur les étiquettes. Une fois ouverts, ils doivent être utilisés sous 8 semaines et stockés entre 2 et 8°C. Après reconstitution, le réactif R4 est stable 5 jours, si stocké entre 2 et 8°C.

La stabilité est garantie en l'absence de contamination bactérienne.

Elimination des réactifs : se conformer à la fiche de sécurité du kit.

ECHANTILLON

Le dosage doit être effectué sur un échantillon de liquide séminal préalablement déprotéinisé avec la méthode décrite dans PROCEDURE à la partie PRETRAITEMENT.

Facteur de Dilution à utiliser dans les calculs : 6,11

PROCEDURE

MATERIEL FOURNI

Voir la partie REACTIFS.

MATERIEL REQUIS

- Des cuvettes utilisables à 340nm. Un spectrophotomètre capable de lire la Densité Optique à 340nm, avec un emplacement thermostaté pour la cuvette de lecture. Des pipettes permettant de prélever des volumes précis. Chronomètre.
- Acide perchlorique HClO₄ 0,3M
- Potassium carbonate K₂CO₃ 1M
- H₂O distillée

PRETRAITEMENT (un seul prétraitement pour le dosage du Citrate, du Fructose et de la Carnitine dans le sperme)

- Mélanger 125µL de plasma séminal dans 500µL d'acide perchlorique à 0.3M.
- Centrifuger à 2800g pendant 15 minutes à 4°C.
- Prélever 450µL du surnageant après centrifugation et les mélanger dans 100µL de K₂CO₃ à 1M.
- Centrifuger à nouveau à 2800g pendant 5 minutes à 4°C.
- L'échantillon est prêt à être analysé, ou il peut être congelé et stocké un mois.
- Facteur de dilution final = 6.11

PROCEDURE

Etape	Action		
1	<i>Pipeter dans les cuvettes :</i>		
	Réactifs	Blanc	Echantillon / Contrôle
	Réactif N°1	1mL	1mL
	Réactif N°2	0,2mL	0,2mL
	Réactif N°3	0,02mL	0,02mL
	Echantillon	-	0,01mL
	Eau distillée	1mL	0,99mL
2	<i>Mélanger et mesurer l'absorbance à 340nm après 2 minutes : DO initiale</i>		
3	<i>Pipeter dans les cuvettes :</i>		
	Réactif N°4	0,02mL	0,02mL
4	<i>Mélanger et mesurer l'absorbance à 340nm après 5 minutes : DO finale</i>		

Merci de vous référer à la partie CALCULS pour déterminer la concentration en Citrate de l'échantillon

CONTROLE QUALITE

Les réactifs du kit de dosage du Citrate doivent être validés par le dosage des contrôles inclus dans le kit. La solution contrôle est à doser en suivant directement la PROCEDURE ci-dessus (pas de traitement nécessaire).

Un dosage du contrôle hors des variations indiquées sur le flacon indique que l'analyse n'est pas correcte. Cette analyse doit être répétée. Si le problème persiste, contactez **Biosentec**.

CALCULS

La concentration de l'échantillon en Citrate est directement proportionnelle au delta de DO suivant :

$$\Delta DO = [DO \text{ initiale} - DO \text{ finale}]_{\text{échantillon}} - [DO \text{ initiale} - DO \text{ finale}]_{\text{blanc}}$$

La concentration en Citrate est calculée par l'équation suivante :

$$C = \frac{V}{\varepsilon \times l \times v} \times FD \times \Delta DO \times 1000 \text{ (mmol/L)}$$

Où :

- V = Volume total du mélange réactionnel (2,24mL)
- ε = Coefficient d'extinction molaire du NADH (6 220 L x mol⁻¹ x cm⁻¹)
- l = Longueur du trajet optique (1cm)
- v = Volume d'échantillon (0,01mL)
- FD = Facteur de Dilution (6,11 dans les conditions de prétraitement indiquées)

Soit dans les conditions de l'analyse :

$$C = 220,04 \times \Delta DO \text{ (mmol/L de Citrate dans l'échantillon)}$$

EXEMPLE

Pour un $\Delta DO = 0,299$, la concentration correspondante en Citrate est de $0,299 \times 220,04 = 65.8$ mmol/L

INTERPRETATION

Le kit ne permet de rendre un résultat précis que lorsque la valeur de ce dernier se trouve dans la gamme de linéarité. Si le résultat calculé est inférieur à la limite basse de linéarité, il doit uniquement être conclu qu'il y est inférieur. De même, si le résultat calculé est supérieur à la limite haute de linéarité, il doit uniquement être conclu qu'il y est supérieur.

PERFORMANCES

REPRODUCTIBILITE

Trente analyses de deux échantillons (19mM et 52,5mM) ont été réalisées avec 3 Lots de kits différents. Chaque série de 30 analyses de chacun des échantillons possède un Coefficient de Variation inférieur à 10%.

SENSIBILITE

La limite de détection, évaluée à 0,54 mmol/L, a été réalisée sur une série de 30 blancs avec 3 Lots de kits différents. La limite de quantification, évaluée à 1,78 mmol/L, a été réalisée sur une série de 30 blancs avec 3 Lots de kits différents.

CORRELATION

Les résultats obtenus par la méthode décrite dans cette procédure ont été comparés à ceux obtenus avec ceux provenant de la méthode utilisée dans un centre hospitalier sur une même série de 54 patients. Cette comparaison a été évaluée via le coefficient de corrélation de Pearson (r) et a été calculé afin d'évaluer l'intensité du lien qui peut exister entre les deux méthodes. $r=1,0653$

LINEARITE

Les concentrations mesurées par ce kit sont proportionnelles aux Densités Optiques mesurées lorsqu'elles sont comprises entre 5 et 100 mmol/L.

INTERFERENCES

Le plasma sérial doit subir un prétraitement à l'acide perchlorique avant d'être utilisable. Cette étape élimine les interférents endogènes.

L'utilisation de matériel propre et stérile, élimine la possibilité d'avoir des interférents exogènes.

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

EXP

Date d'expiration

REF

Référence

LOT

Numéro de Lot

2°C  8°C

A conserver entre 2 et 8°C



BIOSENTEC
65 Allées Campferran
31320 Auzeville- Tolosane

CE

IVD

IN VITRO DIAGNOSTIC