

KIT DE DOSAGE DE L'ACIDE CITRIQUE

REF 061 – Kit pour 2x15 mesures

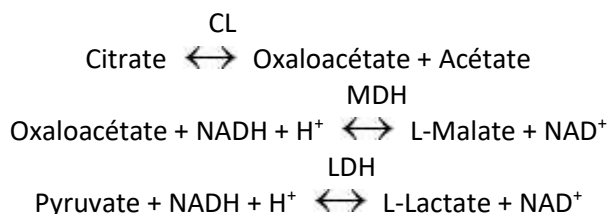


UTILISATION PREVUE & DOMAINE D'APPLICATION

Le Kit de dosage de l'acide citrique **Biosentec** est utilisé afin de déterminer la concentration en acide citrique d'un échantillon urinaire (voir paragraphe « Echantillon »). L'acide citrique est un acide tricarboxylique, le plus abondant des acides organiques présents dans l'urine. Chez le sujet normal, l'alimentation apporte environ 4 g de citrate par jour, mais la plus grande partie du citrate est d'origine endogène et provient du métabolisme du glucose. Une baisse de la citraturie s'observe par exemple au cours de l'hyperparatyroïdie, de l'hypervitaminose D, de la maladie de Wilson, de la maladie de Fabry ou de la prise de médicaments acidifiants.

RESUME

Pour son dosage, il est transformé en Oxaloacétate en présence de la Citrate Lyase (CL). Puis, l'Oxaloacétate est réduit en L-Malate par la Malate Déshydrogénase (MDH), en oxydant le NADH. De même, le Pyruvate, produit de la décarboxylation naturelle de l'Oxaloacétate, est réduit par la L-Lactate Déshydrogénase (LDH), en L-Lactate, en oxydant le NADH en NAD. La disparition du NADH est mesurée par spectrophotométrie à 340 nm :



La quantité de NADH dégradé est proportionnelle à la quantité de Citrate initialement présente dans l'échantillon.

REACTIFS

REACTIF N°1	Tampon Glycylglycine	400mmol/L	30mL
REACTIF N°2	NADH	3mmol/L	6mL
REACTIF N°3	MDH / LDH	>250 et >500 U	0.6mL
REACTIF N°4	CL	>10U	2 doses
	<i>A reconstituer chacune avec 0,32mL d'eau désionisée.</i>		
SOLUTION CONTROLE HAUT	Citrate	Voir étiquette	3mL
SOLUTION CONTROLE BAS	Citrate	Voir étiquette	3mL

VALEURS USUELLES

1,5 à 4,7 mM/24h dans les urines

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.

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 urinaire de 24h récolté sur 30mL d'acide chlorhydrique à 6 mol/L.

Facteur de Dilution à utiliser dans les calculs, $FD = 1 + (\text{volume d'acide (30mL)} / \text{volume d'urine (x mL)})$.

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 étalonnées permettant de prélever des volumes précis. Chronomètre.

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	-	0,1mL
Eau distillée	1mL	0,9mL	
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 10 minutes : DO finale</i>		

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

Attention : Si après la prise de DO finale, celle-ci évolue toujours, reporter la mesure à 2 minutes supplémentaires.

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 :

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

Où :

V	=	Volume total du mélange réactionnel (2,24mL)
ϵ	=	Coefficient d'extinction molaire du NADH (6 220 L x mmol ⁻¹ x cm ⁻¹)
l	=	Longueur du trajet optique (1cm)
v	=	Volume d'échantillon (0,1mL)
FD	=	Facteur de Dilution (voir partie « Echantillon »)
1000	=	Facteur de conversion des unités

Soit dans les conditions de l'analyse :

$$C = 3,6013 \times FD \times \Delta DO \quad (\text{mmol/L de Citrate dans l'échantillon})$$

EXEMPLE

Pour un $\Delta DO = 0,299$ et un $FD = 1$, la concentration correspondante en Citrate est de :
 $0,299 \times 3,6013 = 1,076$ 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 (0,025g/L et 0,200g/L – 0,130mmol/L et 1,041mmol/L) 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 0,006g/L (0,031mmol/L), a été réalisée sur une série de 30 blancs avec 3 Lots de kits différents. La limite de quantification, évaluée à 0,021g/L (0,109mmol/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 16 patients. Cette comparaison a été évaluée via une droite de régression linéaire dont l'équation est $y = 0,991x + 0,031$ et le coefficient de corrélation est 0,985.

LINEARITE

Les concentrations mesurées par ce kit sont proportionnelles aux Densités Optiques mesurées lorsqu'elles sont comprises entre 0,02 et 0,5 g/L (0,104 et 2,602 mmol/L).

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES



Date d'expiration



Référence



Numéro de Lot



A conserver entre 2 et 8°C



BIOSENTEC
65 Allées Campferran
31320 Auzeville- Tolosane



IN VITRO DIAGNOSTIC