

KIT DE DOSAGE DE LA CARNITINE libre SEMINALE

REF 066S – Kit pour 30 mesures

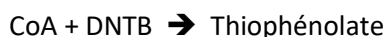
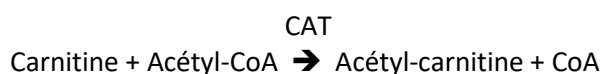


UTILISATION PREVUE

Le Kit de dosage de la Carnitine libre Séminal **Biosentec** est utilisé afin de déterminer la concentration en carnitine d'un échantillon de plasma séminal (voir paragraphe « Echantillon »). La carnitine est un facteur nécessaire à la maturation des spermatozoïdes. Chez le sujet normal, la concentration en carnitine se situe autour de 350 µM. Une augmentation de la concentration s'observe par exemple au cours d'une inflammation ou infection de l'épididyme, une diminution si il y a obstruction du canal déférent. Le suivi de la concentration en carnitine donne donc une information sur l'état de cette glande.

RESUME

Pour son dosage, la carnitine est acétylée par la Carnitine Acétyl-Tranférase (CAT) grâce à de l'Acétyl-CoenzymeA (Acétyl-CoA). Le CoA libéré est ensuite complexé à l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB). La formation de ce complexe est dosée à 415nm :



La quantité de Thiophénolate formé est proportionnelle à la quantité de Carnitine initialement présente dans l'échantillon.

REACTIFS

REACTIF N°1	Tampon Tris	1,42 mol/L	2mL
REACTIF N°2	DTNB	2 mmol/L	3mL
REACTIF N°3	Acetyl-CoA	5 mg	
	A reconstituer avec 3mL d'eau désionisée.		
REACTIF N°4	CAT	> 40 U	0,7mL
SOLUTION CONTROLE HAUT	Carnitine	voir étiquette	3mL
SOLUTION CONTROLE BAS	Carnitine	voir étiquette	3mL

VALEURS USUELLES

260 à 580 µmol/L de Carnitine libre 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. Une fois le Coenzyme A (R3) resuspendu dans l'eau, sa stabilité est de 2 semaines 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.

ECHANTILLONS

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 415nm. Un spectrophotomètre capable de lire la Densité Optique à 415nm, 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	0,06mL	0,06mL
	Réactif N°2	0,1mL	0,1mL
	Réactif N°3	0,1mL	0,1mL
	Echantillon	-	0,2mL
Eau distillée	0,72mL	0,52mL	
2	<i>Mélanger et mesurer l'absorbance à 415nm après 5 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 415nm après 20 minutes : DO finale</i>		

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

CONTROLE QUALITE

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

Un dosage du contrôle hors des valeurs 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 Carnitine est directement proportionnelle au delta de DO suivant :

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

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

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

Où :

- V = Volume total du mélange réactionnel (1,0mL)
- ε = Coefficient d'extinction molaire du DTNB (14,15 L x mmol⁻¹ x cm⁻¹)
- l = Longueur du trajet optique (1cm)
- v = Volume d'échantillon (0,2mL)
- FD = Facteur de dilution induit par le traitement de déprotéinisation : 6,11

Soit dans les conditions de l'analyse :

$$C = \Delta DO \times 2159.01 \text{ (}\mu\text{mol/L de Carnitine libre dans l'échantillon)}$$

EXEMPLE

Pour un $\Delta DO = 0,100$ la concentration correspondante en Carnitine est de $0,100 \times 2159.01 = 215.901 \mu\text{mol/L}$.

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

REPETABILITE

Trente analyses de deux échantillons (277 μ M et 1630 μ M) 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 5%.

SENSIBILITE

La limite de détection, évaluée à 11,5 μ mol/L, a été réalisée sur une série de 30 blancs avec 3 lots de kits différents. La limite de quantification, évaluée à 38 μ mol/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 35 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. $r=0,8659$

LINEARITE

Les concentrations mesurées par ce kit sont proportionnelles aux Densités Optiques mesurées lorsqu'elles sont comprises entre 25 et 2000 μ mol/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



Date d'expiration



Référence



Numéro de Lot



A conserver entre 2 et 8°C



BIOSENTEC
65 Allée Campferran
31320 Auzeville- Tolosane



IN VITRO DIAGNOSTIC