Version Prétraitement Point Redox

SET D'AUTOMATISATION

LACTATE / PYRUVATE

REF 114 – Set d'automatisation des kits de dosage du L-Lactate et du Pyruvate

CE IVD

UTILISATION PREVUE & DOMAINE D'APPLICATION

Le Set d'automatisation «Lactate / Pyruvate» **Biosentec** permet l'adaptation des kits de dosage du Lactate #068 et du Pyruvate #060 sur analyseur séquentiel. Ce set comprend des solutions titrées permettant de réaliser dix calibrations ainsi que des tampons de dilution facilitant l'usage des kits sur automate. Ces solutions sont à utiliser avec les kits Biosentec correspondants. Ils ont été validés pour une utilisation sur analyseur séquentiel MINDRAY BS-480 dont vous trouverez les éléments de programmations et les performances ci-dessous.

CONTENU DU SET

LYOPHILISATS	Lactate / Pyruvate	Standard Bas (Sb)	10 flacons
LYOPHILISATS	Lactate / Pyruvate	Standard Haut (Sh)	10 flacons
TAMPON DE DILUTION	Lactate	Tampon Lactate	2 x 30 mL
	Pyruvate	Tampon Pyruvate	105 mL

PREPARATION DES BI-REACTIFS

LACTATE 068

Réactif R1 :	1,75 volumes Tampon Lactate + 2 volumes 068-R1	stabilité 5 jours
Réactif R2 :	2 volumes 068-R2 + 0,1 volume 068-R3 + 0,1 volume 068-R4	stabilité 5 jours

PYRUVATE 060

Réactif R1 :	5 volumes Tampon Pyruvate + 1 volume 060-R2	stabilité 5 jours
Réactif R2 :	5 volumes 060-R1b + 0,2 volume 060-R3	stabilité 5 jours

PRETRAITEMENT DES ECHANTILLONS

Aucune méthode d'analyse connue ne permet de s'assurer que les échantillons humains de sang ne transmettent aucune infection. Tous les dérivés de sang doivent donc être manipulés avec attention.

Le dosage doit être effectué sur un échantillon de sang total déprotéinisé avec de l'acide perchlorique puis neutralisé avec du tripotassium phosphate. Le facteur de dilution correspondant au prétraitement est égal à 2,3.

Le prélèvement de sang total doit être réalisé sur tube hépariné et ne doit pas être hémolysé. Afin d'éviter sa dégradation, l'échantillon doit être déprotéinisé immédiatement (<5 min). 2mL de sang total permettent de réaliser les 4 analyses du point redox en manuel. Sur automate, 0,5 mL seulement sont nécessaires (même procédure en conservant les ratios).

Déprotéinisation :

- Mélanger 2mL de sang total + 2mL d'acide perchlorique 1M (préalablement réfrigéré à 4°C).
- Agiter énergiquement (ou vortexer) pendant 15 secondes pour obtenir un coagulum marron.
- Si la neutralisation et le dosage ne sont pas réalisés immédiatement, conserver le tube congelé à -20°C pendant 5 jours maximum.

Neutralisation :

- Après décongélation, centrifuger 10 minutes à 3 000 x g et à 4 °C
- Si le surnageant n'est pas limpide et incolore, centrifuger à nouveau.
- Mélanger 1,5mL de surnageant pour 0,225mL de K_3PO_4 2M (préalablement réfrigéré à 4°C).
- Vortexer et centrifuger 5 minutes à 3 000 x g et à 4°C.
- Doser le surnageant immédiatement selon la procédure d'essai ci-dessous.

SEQUENCE DE REACTION SUR AUTOMATE (BS-480 Mindray)

LACTATE

1) Ajout de 125 µL de réactif R1
2) Ajout de 5 µL d'échantillon
3) Attente de 180 secondes d'incubation
4) Lecture de DO : λ primaire = 340 nm / λ secondaire = 700 nm
5) Ajout de 29 µL de réactif R2
6) Attente de 300 secondes de réaction
7) Lecture de DO : λ primaire = 340 nm / λ secondaire = 700 nm

PYRUVATE

1) Ajout de 120 µL de réactif R1
2) Ajout de 45 µL d'échantillon
3) Attente de 180 secondes d'incubation
4) Lecture de DO : λ primaire = 340 nm / λ secondaire = 700 nm
5) Ajout de 50 µL de réactif R2
6) Attente de 300 secondes de réaction
7) Lecture de DO : λ primaire = 340 nm / λ secondaire = 700 nm

TABLEAU RECAPITULATIF

	Volume R1	Volume Echantillon	Incubation	Lecture	Volume R2	Réaction	Lecture
Lac	**125 µL**	**5 µL**	**180 sec**	**340 nm (700nm)**	**29 µL**	**300 sec**	**340nm (700nm)**
Pyr	**120 µL**	**45 µL**	**180 sec**	**340 nm (700nm)**	**50 µL**	**300 sec**	**340nm (700nm)**

CALIBRATION ET GAMME DE LINEARITE

LACTATE

Gamme analytique : 100 – 2000 µmol/L

Le facteur de dilution du prétaitement (déprotéinisation + neutralisation) étant égal à 2,3, la concentration des échantillons sanguins doit être compris dans l'intervalle suivant : 230 – 4600 µmol/L

Concentration du Calibrant Haut (Sh) : 2000 µmol/L

Concentration du Calibrant Bas (Sb) : 1000 µmol/L

PYRUVATE

Gamme analytique : 10 – 500 µmol/L

Le facteur de dilution du prétaitement (déprotéinisation+neutralisation) étant égal à 2,3, la concentration des échantillons sanguins doit être compris dans l'intervalle suivant : 23 – 1150 µmol/L

Concentration du Calibrant Haut (Sh) : 500 µmol/L

Concentration du Calibrant Bas (Sb) : 250 µmol/L

PREPARATION DES SOLUTIONS CALIBRANTES

- Calibrants bas : Redisperser les lyophilisats Sb dans 1000 µL d'eau distillée
- Calibrants haut : Redisperser les lyophilisats Sh dans 500 µL d'eau distillée

MODE D'ETALONNAGE

Etalonnage 3 points - Linéaire : E1 = eau E2 = Sb E3 = Sh

Ne pas oublier de prendre en compte le facteur de dilution (2,3) correspondant au prétraitement pour rendre les résultats échantillons.

STABILITE DES SOLUTIONS TITREES

Les tampons de dilution sont à conserver à 4 °C jusqu'à la date de péremption du kit.

Les lyophilisats sont à conserver au congélateur à -20°C jusqu'à la date de péremption du kit. Merci de vous référer à la procédure de manipulation des produits congelés en vigueur dans l'établissement.

Les solutions obtenues après redispersion des lyophilisats sont stables 6 heures conservées à 4°C.

PERFORMANCES ANALYTIQUES (BS-480)

SENSIBILITE (Blanc × 30)

	Limite Détection (3 SD)	Limite Quantification (10 SD)
Lactate	**30 µmol/L**	**100 µmol/L**
Pyruvate	**2,3 µmol/L**	**6,9 µmol/L**

REPETABILITE (Analyse × 30)

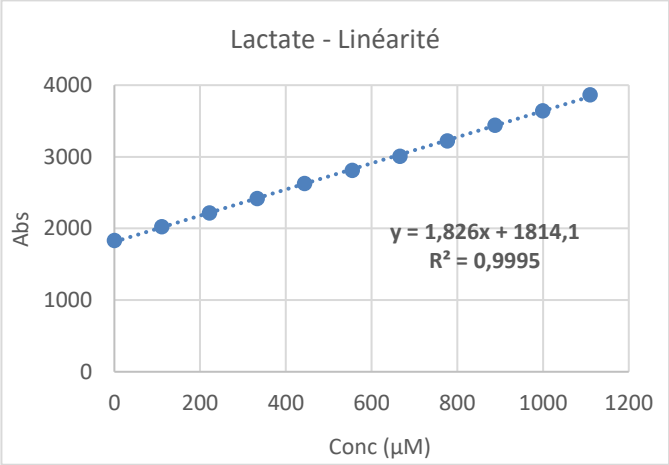
Lactate

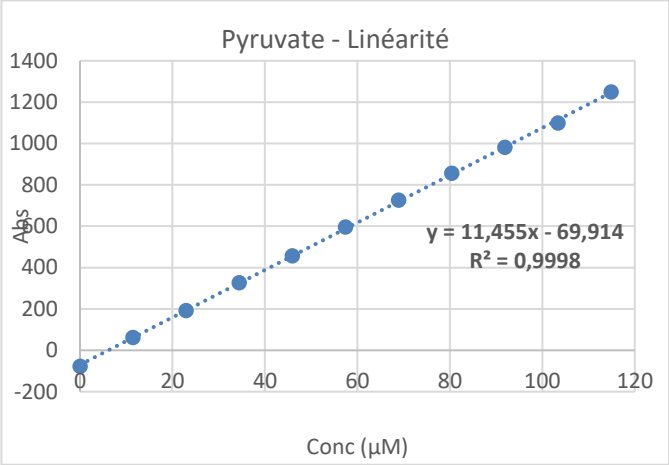
Conc (µM)	SD	CV (%)
95,5 (<LQ)	14,05	14,7
1091	12,98	1,2

Pyruvate

Conc (µM)	SD	CV (%)
10,3	0,612	5,9
115	0,655	0,6

LINEARITE (N = 10 sur 11 niveaux de concentration)





INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

EXP *Date d'expiration*

REF *Référence*

LOT *Numéro de Lot*

2°C 8°C *A conserver entre 2 et 8°C*

BIOSENTEC
48 Chemin des Palanques Sud
31120 Portet-sur-Garonne

IVD *IN VITRO DIAGNOSTIC*

CE