

SET D'AUTOMATISATION

ACETOACETATE / β -HYDROXYBUTYRATE

REF 115 – Set d'automatisation du kit Corps Cétoniques  

UTILISATION PREVUE & DOMAINE D'APPLICATION

Le Set d'automatisation «AcétoAcétate / β -Hydroxybutyrate» **Biosentec** permet l'adaptation du kit de dosage des corps cétoniques #067 sur analyseur séquentiel. Ce set comprend des solutions titrées permettant de réaliser dix calibrations ainsi que des tampons de dilution facilitant l'usage du kit sur automate. Ces solutions sont à utiliser avec le kit Biosentec correspondant. Il a été validé pour une utilisation sur automate séquentiel MINDRAY BS-480 dont vous trouverez les éléments de programmation et les performances ci-dessous.

CONTENU DU SET

LYOPHILISATS	β -Hydroxybutyrate / Acétoacétate	Standard Bas (Sb)	10 flacons
LYOPHILISATS	β -Hydroxybutyrate / Acétoacétate	Standard Haut (Sh)	10 flacons
TAMPON DE DILUTION	Tampon, stabilisants	-	30 mL

PREPARATION DES BI-REACTIFS

β -HYDROXYBUTYRATE #067

Réactif R1 :	10 volumes 067-R1 + 1 volume 067-R2	stabilité : 5 jours
Réactif R2 :	1 volume tampon dilution + 1 volume 067-R3	stabilité : 5 jours

ACETOACETATE #067

Réactif R1 :	10 volumes 067-R4 + 1 volume 067-R5	stabilité : 5 jours
Réactif R2 :	1 volume tampon dilution + 1 volume 067-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 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 immédiatement déprotéinisé. 500µL d'échantillon permettent de réaliser les 4 analyses du point redox.

Le dosage doit être effectué sur un échantillon déprotéinisé avec de l'acide perchlorique 1M puis neutralisé avec K_3PO_4 :

- Mélanger 500µL d'échantillon pour 500µL d'acide perchlorique 1M (préalablement réfrigéré à 4°C)
- Vortexer énergiquement pendant 15 secondes puis placer dans la glace (ou à 4°C) pendant 5 minutes pour compléter la précipitation des protéines
- Vortexer à nouveau 15 secondes et 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 400µL de surnageant pour 60µL de K_3PO_4 2M (préalablement réfrigéré à 4°C)
- Vortexer et centrifuger 5 minutes à 3 000 x g et 4°C
- Doser le surnageant selon la procédure d'essai ci-dessous (sert également à doser le Lactate et les corps cétoniques) ; Si l'analyse n'est pas réalisée immédiatement, celui-ci peut être conservé au congélateur à -20 °C pendant 3 jours maximum.

SEQUENCE DE REACTION SUR AUTOMATE (BS-480 Mindray)

β-HYDROXYBUTYRATE

- 1) Ajout de 120 µL de réactif R1
- 2) Ajout de 35 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 20 µL de réactif R2
- 6) Attente de 300 secondes de réaction
- 7) Lecture de DO : λ primaire = 340 nm / λ secondaire = 700 nm

ACETOACETATE

- 1) Ajout de 120 µL de réactif R1
- 2) Ajout de 35 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 20 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
β-OH	120 µL	35 µL	180 sec	340 nm (700nm)	20 µL	300 sec	340nm (700nm)
AA	120 µL	35 µL	180 sec	340 nm (700nm)	20 µL	300 sec	340nm (700nm)

CALIBRATION ET GAMME DE LINEARITE

β-HYDROXYBUTYRATE

Gamme analytique : 2 – 1000 µmol/L

Le facteur de dilution du prétraitement (déprotéinisation + neutralisation) étant égal à 2,3, la concentration des échantillons sanguins doit être compris dans l'intervalle suivant : 5 – 2300 µmol/L

Concentration du Calibrant Haut : 1000 µmol/L

Concentration du Calibrant Bas : 500 µmol/L

ACETOACETATE

Gamme analytique : 6 – 250 µmol/L

Le facteur de dilution du prétraitement (déprotéinisation + neutralisation) étant égal à 2,3, la concentration des échantillons sanguins doit être compris dans l'intervalle suivant : 15 – 575 µmol/L

Concentration du Calibrant Haut : 250 µmol/L

Concentration du Calibrant Bas : 125 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 = Standard bas (Sb) E3 = Standard haut (Sh)

Ne pas oublier de prendre en compte le facteur de dilution (2.3) correspondant au prétraitement pour rendre les résultats échantillons.

STABILITE

Le tampon de dilution est 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 2 heures conservées à 4°C.

PERFORMANCES ANALYTIQUES (BS-480 Mindray)

SENSIBILITE (Blanc × 30)

	Limite Détection (3 SD)	Limite Quantification (10 SD)
β-hydroxybutyrate	0,6 μmol/L	2 μmol/L
Acétoacétate	1,6 μmol/L	5,3 μmol/L

REPETABILITE (Analyse × 30)

β-Hydroxybutyrate

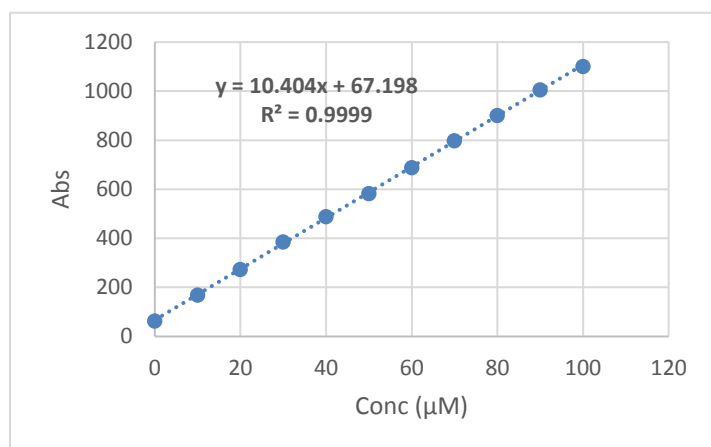
Conc (μM)	sd	CV (%)
4,1	0,264	6,4
100,3	0,458	0,5

Acétoacétate

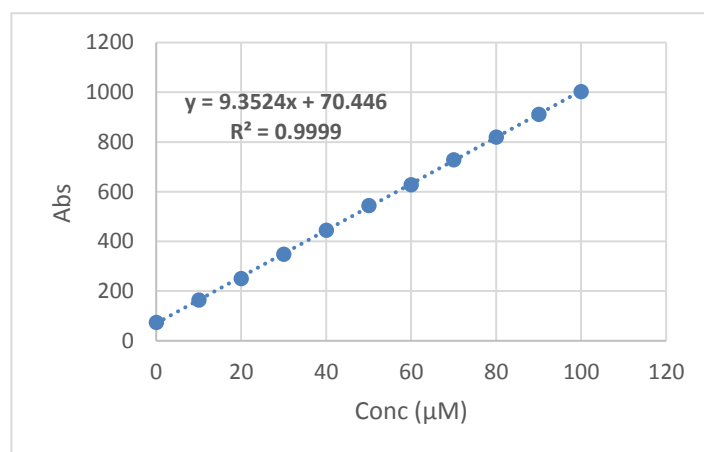
Conc (μM)	sd	CV (%)
10,3	0,781	7,6
96,7	0,591	0,6

LINEARITE (N = 10 sur 11 niveaux de concentration)

β-Hydroxybutyrate



Acétoacétate



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



IVD IN VITRO DIAGNOSTIC