

Stanbio Laboratory

β -hydroxybutyrate LiquiColor®

N° de procédure 2440

Indications d'emploi : destiné à la détermination quantitative du β -hydroxybutyrate dans le sérum ou le plasma humain.

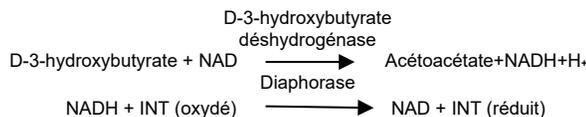
Résumé et principe

La cétose est une caractéristique commune aux patients malades en phase aiguë. Chez les personnes souffrant d'inanition, d'abus d'alcool en phase aiguë ou de diabète, la cétose peut entraîner une acidose métabolique potentiellement fatale.¹ La présence et le stade de cétose peuvent être déterminés en mesurant les concentrations sanguines de β -hydroxybutyrate.

Le β -hydroxybutyrate est en général le cétoacide présent en plus grande quantité dans le sérum. Il représente environ 75 % des corps cétoniques, également composés d'acétoacétate et d'acétone.^{2,3,4} Au cours des périodes de cétose, le β -hydroxybutyrate augmente davantage que les deux autres cétoacides, l'acétoacétate et l'acétone, et il a été montré qu'il était un meilleur indicateur de l'acidocétose, y compris pour la détection de la cétose subclinique.^{5,6,7,8}

Chez les diabétiques, la mesure du β -hydroxybutyrate est nécessaire au même titre que la glycémie pour évaluer la gravité du coma diabétique et est essentielle pour exclure le coma hyperosmolaire hyperglycémique non cétosique. En outre, les besoins en insuline sont souvent calculés en fonction de l'ampleur de l'hypercétonémie existante⁹ indiquée par les taux sanguins de β -hydroxybutyrate, qui joue donc un rôle primordial dans l'évaluation de la cétose.

Une quantification enzymatique du β -hydroxybutyrate par le biais de la β -hydroxybutyrate-déshydrogénase a été rapportée.^{10,11,12} Dans la méthode Stanbio, le β -hydroxybutyrate (D-3-hydroxybutyrate) en présence de NAD est converti en acétoacétate et en NADH au pH 8.5 par la β -hydroxybutyrate-déshydrogénase (D-3-hydroxybutyrate-déshydrogénase). Avec ce pH, la réaction est déplacée vers la droite.¹² Le NADH produit réagit avec l'INT en présence de diaphorase pour produire une couleur à 505 nm.



Réactifs

Enzyme (R1), n° de réf. 2441

Contient les enzymes β -hydroxybutyrate-déshydrogénase et diaphorase.

Catalyseur (R2), n° de réf. 2442

Contient du NAD, de l'INT, et de l'oxalate.

Étalon, 1 mmol/l, n° de réf. 2443

Contient 1 mM de sodium D-3-hydroxybutyrate.

Précautions

À des fins de diagnostic *in vitro* uniquement. Sur prescription uniquement. Éviter tout contact cutané avec les réactifs. Dans le cas contraire, laver immédiatement à l'eau.

Préparation des réactifs :

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

Stockage et stabilité des réactifs :

Les réactifs sont stables lorsqu'ils sont stockés entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur leur étiquetage respectif. Après ouverture, toute contamination doit être évitée.

Détérioration

Les réactifs doivent être des solutions claires. Jeter les réactifs en cas de turbidité, de particules discrètes ou de tout changement indiquant une contamination microbienne.

Matériel à fournir

Spectrophotomètre capable de lire l'absorbance à 505 nm.

Incubateur avec contrôle de température.

Dispositifs de pipetage de précision, minuteur, cuvettes.

Réactif (eau ou solution saline) en tant que point zéro d'étalonnage, ou diluant

Prélèvement et préparation des échantillons

Dosage prévu pour des échantillons de sérum ou plasma recueillis dans des tubes avec EDTA, héparine ou fluorure de sodium. Éviter l'hémolyse.

Stabilité de l'échantillon : Les taux sériques ou plasmatiques de β -hydroxybutyrate restent stables au moins une semaine au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C).

Interférences de substances : Aucune altération significative des valeurs n'a été constatée après ajout des analytes suivants dans le sérum contenant 0,5 mM de β -hydroxybutyrate.

	% de récupération
Glucose (2000 mg/dl)	96
Acide acétoacétique (5 mM)	96
Créatinine (5 mg/dl)	106
Ascorbate (3 mg/dl)	106
Bilirubine (10 mg/dl)	96
Acide urique (16 mg/dl)	102
Triglycérides (417 mg/dl)	104
Cholestérol (314 mg/dl)	94
Lactico-déshydrogénase (1515 U/ml)	93
Lactate de sodium (96 mg/dl)	99

Un sérum hémolysé, avec une DO à 540 nm de 2,0, a également été ajouté au test, sans interférence constatée.

Analyseur automatisé

Pour connaître les paramètres de programmation, consulter l'application du système intégré Ortho VITROS 5600, du système de chimie VITROS 4600 et du système intégré VITROS XT 7600.

Contrôle qualité

1) Stanbio Laboratory recommande l'utilisation de la trousse de contrôles Stanbio TDM/B-hydroxybutyrate trois niveaux

(n° de réf. 2460-605) ou de la trousse de contrôles TDM/B-hydroxybutyrate deux niveaux (n° de réf. 2465-605). Consultez le mode d'emploi pour connaître les plages des contrôles.

2) Deux ou trois niveaux de contrôles sont analysés chaque jour d'utilisation de l'appareil, avant la présentation des résultats au patient.

3) Reportez-vous au mode d'emploi pour connaître les plages établies. Les valeurs de contrôles récupérées en dehors des plages établies sont considérées hors contrôle et nécessitent l'action corrective suivante.

a) Recommencez la procédure avec les mêmes contrôles sans présenter les résultats au patient s'ils sont de nouveau hors limites.

b) Si les nouveaux résultats des contrôles sont toujours hors des limites établies, utilisez un flacon neuf de contrôle et recommencez le test. Si les résultats sont inclus dans la plage, présentez les résultats du patient.

c) Si les résultats des contrôles neufs sont toujours hors de la plage établie, étalonnez l'analyseur et recommencez la procédure avec les contrôles. Si les contrôles sont compris dans les limites, répétez le test avec les échantillons de patient.

d) Si, après étalonnage avec le réactif existant, les résultats du contrôle sont toujours hors de la plage, étalonnez l'analyseur avec un réactif neuf et les mêmes contrôles. Si les résultats des contrôles sont compris dans la plage, répétez le test avec les échantillons de patient.

e) Si aucune de ces procédures ne permet d'obtenir des résultats de CQ acceptables, contactez le service technique de Stanbio Laboratory (800-531-5535).

4) La valeur moyenne et la plage attendue qui se trouvent sur le mode d'emploi sont dérivées de données interlaboratoires. La plage attendue inclut les variations de l'instrument, du réactif et du laboratoire. Cette moyenne de plusieurs déterminations du laboratoire peut ne pas retrouver la valeur moyenne indiquée dans le mode d'emploi, mais elle doit être comprise dans la plage attendue.

5) Chaque laboratoire doit établir sa propre moyenne et ses propres paramètres de précision.

Résultats

Les valeurs sont déduites de l'équation suivante :

$$\frac{Au}{As} \times 1 \text{ mmol/L} = \beta\text{hydroxybutyrate (mmol/l)}$$

Où Au et As sont respectivement les valeurs d'absorbance de l'inconnu et de l'étalon, 1 correspondant à la concentration de l'étalon.

Restrictions

La lactico-déshydrogénase et le lactate ont montré des signes d'interférence avec le dosage. L'incorporation d'acide oxalique dans ce réactif élimine l'interférence rapportée.¹²

Valeurs attendues

La quantification du β -hydroxybutyrate est importante dans les cas d'acidocétose. Dans les études portant sur des personnes

en bonne santé ayant jeûné pendant 12 heures avant le prélèvement de sang, la fourchette de valeurs du β -hydroxybutyrate se trouvait entre 0,02 mM (0,2 mg/dl) et 0,27 mM (2,81 mg/dl).^{4,5} D'autres fourchettes ont également été rapportées.¹³

Plage de mesure

La plage de mesure est comprise entre 0,02 et 6,0 mmol/l.

Caractéristiques de performances pour Ortho VITROS 4600

Sensibilité Mené conformément au CLSI EP17-A2.	
Limite du blanc	≤ 0,02 mmol/l
Limite de détection	0,016 mmol/L
Limite de quantification	0,031 mmol/l pour un CV de 10 %

Linéarité Mené conformément au CLSI EP06-A.	
0,02 - 6,0 mmol/l	

Précision Mené conformément au CLSI EP05-A3 sur 22 jours.		
Intra-analyse	Contrôle niveau 1	Contrôle niveau 2
Moyenne (mmol/l)	0,194	4,209
Coefficient de variation (%)	2,58	0,67
Analyse totale	Contrôle niveau 1	Contrôle niveau 2
Moyenne (mmol/l)	0,194	4,209
Coefficient de variation (%)	3,09	0,86

Comparaison de méthodes 105 échantillons (85 sérums / 20 plasmas) ont été analysés sur l'Ortho VITROS 4600 et comparés à l'analyseur Sirus, conformément au CLSI EP09-A3.	
$y = 0,9542x - 0,0123$ avec un coefficient de corrélation de 0,9947	

Caractéristiques de performances pour Ortho VITROS 5600

Les caractéristiques de performance pour le système Ortho VITROS 5600 sont applicables au système VITROS XT 7600

Sensibilité Mené conformément au CLSI EP17-A2.	
Limite du blanc	≤ 0,02 mmol/l
Limite de détection	0,012 mmol/L
Limite de quantification	0,031 mmol/l pour un CV de 10 %

Linéarité Mené conformément au CLSI EP06-A.	
0,02 - 6,0 mmol/l	

Précision Mené conformément au CLSI EP05-A3 sur 22 jours.		
Intra-analyse	Contrôle niveau 1	Contrôle niveau 2

Moyenne (mmol/l)	0,188	4,232
Coefficient de variation (%)	1,06	0,57
Analyse totale	Contrôle niveau 1	Contrôle niveau 2
Moyenne (mmol/l)	0,188	4,232
Coefficient de variation (%)	1,06	0,90

Comparaison de méthodes 105 échantillons (85 sérums / 20 plasmas) ont été analysés sur l'Ortho VITROS 5600 et comparés à l'analyseur Sirus, conformément au CLSI EP09-A3.	
$y = 0,97x - 0,0227$ avec un coefficient de corrélation de 0,9972	

Un échantillon élevé en analyte peut produire une absorption dans la gamme photométrique du système VITROS, mais dépassant la gamme de mesure d'analyse et amenant un code OR.

Un échantillon élevé en analyte peut amener une absorption hors de la gamme photométrique du système VITROS, amenant un code CB.

Pour les codes OR ou CB, diluez l'échantillon 3X avec une solution saline ou de l'eau de qualité réactive, et analysez de nouveau. Ceci peut être fait par dilution manuelle « hors ligne », ou par une dilution automatisée demandée par l'opérateur, en utilisant 2 paquets de dilution FS (BSA/salin) de produits chimiques VITROS, ou 3 paquets de dilution FS (eau/diluant spécialité) de produits chimiques VITROS. Multipliez le résultat final par 3 si la dilution utilisée est une dilution manuelle « hors-ligne », et si le facteur de la dilution manuelle n'a pas été entré en programmant l'échantillon.

Se reporter au glossaire de symboles à l'adresse www.ekfusa.com/symbols-glossary.

Références

1. Foster DW and McGarry, N Eng J Med 309, 159 (1983).
2. Persson B, Scand J Clin Lab Invest 25, 9 (1969).
3. Wildenhoff KE, Clin Chem 24, 475 (1978).
4. Koch DD and Feldbruegge DH, Clin Chem 33 (10), 1761 (1987).
5. Li PK, Lee JT, MacGillivray MH, Schaefer PA and Siegel JH, Clin Chem 26(12), 1713 (1980).
6. Stephens JM, Sulway MJ and Watkins PJ, Diabetes 20 (7), 485 (1971).
7. Harano Y, Kosugi K, Hyosu T, Uno S, Ichikawa Y and Shigeta Y, Clin Chem Acta 134, 327 (1983).
8. MacGillivray MH, Li PK, Lee JT and et al., J Clin Endocrinol Metab 54, 665, (1982).
9. Alberti KGMM and Hockaday TDR, Brit Med J 2, 565 (1972).
10. Williamson DH, Mellenby J and Krebs HA, Biochem J 82, 90 (1962).
11. Zivin JA and Snarr JF, Anal Biochem 52, 456 (1973).
12. McMurray CH, Blanchflower WJ and Rice DA, Clin Chem 30/ 3, 421 (1984).
13. Hansen JL and Freier EF, Clin Chem 24/3, 475 (1978).

Tél. service technique : 800-531-5535 • (830) 249-0772
 Fax (830) 249-0851 • E-mail : stanbiolab@ekfdiagnostics.com
<http://www.ekfusa.com>
 Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006
 IFU-00056.0 • N° de procédure 2440