



体外診断用医薬品	
日本標準商品分類番号	877439

ご使用前に本添付文書をよく読んでください

※※ 2013年 4月改訂(第4版)
※ 2007年 4月改訂(第3版)
承認番号 16200AMZ00438000

ケトン体キット

ケトレックス「三和」

※※■全般的な注意■

- 本品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないでください。
- 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果などと併せて、担当医師が総合的に判断してください。
- 測定に使用する機器の添付文書および取扱説明書をよく読んでから使用してください。
- 本品の測定は、本添付文書の記載内容に従ってください。記載内容以外の使用につきましては、性能や測定結果を保証できません。

■形状・構造等(キットの構成)■

除たん白液	35mL×1
溶解液A	10mL×1
溶解液B	8mL×1
補酵素試薬A	4mL用×2
補酵素試薬B	8mL用×1
酵素原液(3-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素)	1.7mL×1

■使用目的■

血中ケトン体(アセト酢酸、3-ヒドロキシ酪酸)分別(比)測定

■測定原理■

1. 測定原理

Williamsonらの酵素法原理に基づき、アセト酢酸及び3-ヒドロキシ酪酸を測定します^{1), 2)}。



NADHの減少量及び生成量を波長340nmで測定することにより求めます。その結果、ケトン体比(アセト酢酸/3-ヒドロキシ酪酸)を求めることができます。

3-HBDH: 3-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素

2. 特徴

- 高濃度域でのケトン体比(アセト酢酸/3-ヒドロキシ酪酸)を正確に求めることができます。
- 反応はエンドポイント法です。
- 再現性は良好です。
- 10~200 μmol/Lまで直線性を示します。

■操作上の注意■

1. 測定検体の取扱い上の注意

- 試料は血清又は血漿を使用してください。
- 試料は室温(20℃)で2時間、2~8℃で48時間安定です。
- 抗凝固剤は通常の濃度では測定値に影響を与えません。

2. 測定操作上の注意

- 血中アセト酢酸、3-ヒドロキシ酪酸濃度が10 μmol/L未満の場合には、ケトン体比の計算に使用しないでください。高カロリー輸液中では各ケトン体濃度が10 μmol/L以下の場合が多く、正確な値を知るためには糖投与量を減量し、各ケトン体濃度が10 μmol/L以上になるのを待って測定しなおしてください。
- 10~200 μmol/Lまで測定可能ですが、より高濃度の検体は精製水で1:1に希釈した後、再び測定し、測定値を2倍してください。
- 調製した補酵素試液A、補酵素試液B及び酵素試液は必ず2~8℃に保存してください。
- 反応温度及び反応時間はできるだけ正確に守ってください。

※※3. 妨害物質

血中の共存物質であるアスコルビン酸は100mg/dL、ビリルビンは161mg/dL、ヘモグロビンは5000mg/dL、アルブミンは200g/dL、グルコースは10000mg/dL、尿酸は200mg/dL、クレアチンは200mg/dLまで測定値に影響を与えません。

■用法・用量(操作方法)■

1. 試液の調製

- 補酵素試液A
補酵素試薬A 1瓶に溶解液A 4mLを加えて溶かし、補酵素試液Aとしてください。この溶液は、冷蔵保存(2~8℃)で10日間使用できます。
- 補酵素試液B
補酵素試薬B 1瓶に溶解液B 1瓶全量を加えて溶かし、補酵素試液Bとしてください。この溶液は、冷蔵保存(2~8℃)で20日間使用できます。
- 酵素試液
酵素原液 1瓶に精製水 1.5mLを加えて混和し、酵素試液としてください。この溶液は、冷蔵保存(2~8℃)で30日間使用できます。

2. 測定操作法

- 検体前処理(除たん白)
 - 遠心管に除たん白液 1mL、血清又は血漿 1mLを添加し、十分にかけ混ぜます。
 - 10分以上氷槽中に放置した後、4℃で3000rpm、10分間遠心分離し上清を採ります。
- 測定法

	(A)アセト酢酸	(B)3-ヒドロキシ酪酸
上清	0.50mL	0.50mL
補酵素試液A	0.25mL	—
補酵素試液B	—	0.25mL
混和し、37℃で5分間加温後、精製水を対照として波長340nmにおける吸光度を求めます。		
吸光度 1	Eo(A)	Eo(B)
酵素試液	0.05mL	0.05mL
混和し、37℃で15分間加温後、精製水を対照として波長340nmにおける吸光度を求めます。		
吸光度 2	Ef(A)	Ef(B)

3. 計算法

アセト酢酸濃度(μmol/L)

$$= (Eo(A) \times \frac{0.75}{0.80} - Ef(A) + 0.01) \times \frac{0.80 \times 2}{6.22 \times 10^{-3} \times 1.0 \times 0.50}$$

$$= (Eo(A) \times \frac{0.75}{0.80} - Ef(A) + 0.01) \times 514$$

3-ヒドロキシ酪酸濃度(μmol/L)

$$= (Ef(B) - Eo(B) \times \frac{0.75}{0.80} - 0.01) \times \frac{0.80 \times 2}{6.22 \times 10^{-3} \times 1.0 \times 0.50}$$

$$= (Ef(B) - Eo(B) \times \frac{0.75}{0.80} - 0.01) \times 514$$

ケトン体比

= アセト酢酸濃度 / 3-ヒドロキシ酪酸濃度

$$= \frac{Eo(A) \times \frac{0.75}{0.80} - Ef(A) + 0.01}{Ef(B) - Eo(B) \times \frac{0.75}{0.80} - 0.01}$$

0.80: 反応液量(mL)

0.75: 酵素試液添加前液量(mL)

6.22×10^{-3} : NADHのマイクロモル吸光係数

0.50: 上清液量(mL)

1.0: 光路長(cm)

2: 希釈倍数

0.01: 反応終液中の3-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素の吸光度

■臨床的意義■

細胞がその機能を正常に営むためには、そのエネルギー(ATP)消費に見合っただけのエネルギーがミトコンドリアによって生成されなければなりません(Energy chargeの恒常性)。従って、細胞

内エネルギーが低下すると、それを回復させるためにミトコンドリアはエネルギーの生成を亢進します。特に肝臓のミトコンドリアは代謝・免疫・感染防御等の全身の機能を維持するために、中心的な役割を演じます。ミトコンドリアは、NAD-linkの脱水素酵素(NAD⁺/NADH)をはじめとして、多くの呼吸酵素の酸化還元反応によってエネルギーを生成しますが、そのNAD⁺/NADH比は3-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素を介してアセト酢酸/3-ヒドロキシ酪酸比と平衡状態にあります³⁾。

この酵素はからだの中では肝ミトコンドリアの内膜にほとんどが存在し、その活性は著しく高いため、肝臓に入ったケトン体を全て速やかに⁴⁾、肝ミトコンドリアの酸化還元比と平衡にするとともに、動脈血中のケトン体比(AKBR)もこの比に制御されます。従って、血中のケトン体量とケトン体比は全く関係がありません。

これらの事実はSchlichtigらのKetone extraction ratio⁵⁾、Ozawa、ChanceらのRedox scannerによる酸化フラボプロテイン/還元ピリジンヌクレオチド比⁶⁾、Kitaiらの³¹P-NMRを用いたβ-ATP/Pi⁷⁾等、数多くの事実から実証されています。

小澤らはブドウ糖を大量に投与し、Ketogenesisを抑制した状態でのAKBRの最大、即ちOxi_{max}が肝細胞のエネルギー状態(肝のEnergy charge)と相関することを明らかにしており、AKBRを評価する場合は十分なブドウ糖を負荷しておかなければなりません。

現在、AKBRは肝予備能を鋭敏に反映する指標として、肝切除・肝移植等の肝臓外科領域は勿論のこと、集中治療、救急、内科、外科領域等でも広く使用されています。⁸⁻¹²⁾

■性 能■

※※1. 性能

(1) 感度

特定濃度のアセト酢酸リチウム溶液を試料として定量するとき、その理論濃度の90~110%の範囲内である。

特定濃度のD-3-ヒドロキシ酪酸ナトリウム溶液を試料として定量するとき、その理論濃度の90~110%の範囲内である。

(2) 正確性

特定濃度のアセト酢酸リチウム溶液を試料として吸収スペクトルを測定するとき、その極大吸収波長は336~340nmの範囲内である。

特定濃度のD-3-ヒドロキシ酪酸ナトリウム溶液を試料として吸収スペクトルを測定するとき、その極大吸収波長は336~340nmの範囲内である。

(3) 再現性

特定濃度のアセト酢酸リチウム溶液を試料として、10回同時に定量するとき、その変動係数(CV値)は、5%以下である。

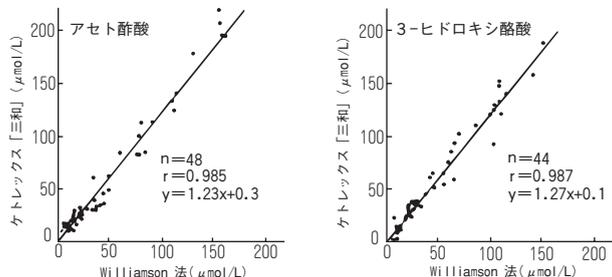
特定濃度のD-3-ヒドロキシ酪酸ナトリウム溶液を試料として、10回同時に定量するとき、その変動係数(CV値)は、5%以下である。

(4) 測定範囲

10~200 μmol/L

2. 相関性

Williamson法と本キットとの相関性を検討した結果、下記のような良好な相関関係が得られました。



使用検体
Williamson法：全血
ケトレックス「三和」：血漿

※※3. 校正用の基準物質(標準物質)

社内標準品

※※■使用上又は取扱い上の注意■

1. 取扱い上(危険防止)の注意

- (1) 試料にはHBウイルス等の感染性微生物が存在することがあるので、感染の危険性があるものとして、取扱いには十分注意してください。
- (2) 試薬や検体が目や皮膚に付着したり、口に入ったりしないように注意してください。誤って目や口に入ったりした場合は、直ちに水で十分に洗浄するなどの応急処置を行い、必要に応じて医師の手当を受けてください。

2. 使用上の注意

- (1) 試液は必ず冷蔵(2~8℃)保存し、凍結保存は避けてください。
- (2) 使用期限の切れた試液は使用しないでください。
- (3) 異なるロットの試液を混ぜ合わせて使用しないでください。

3. 廃棄上の注意

試液中には防腐剤としてアジ化ナトリウムが含まれていますので、残液を廃棄する場合には大量の水で洗い流してください。

■貯蔵方法・有効期間■

1. 貯蔵方法 2~8℃

2. 有効期間 製造後1年6箇月(使用期限は外箱に記載)

■包装単位■

30回用

■主要文献■

- 1) Williamson DH, Mellanby J, Krebs HA : Enzymic determination of D(-)-β-hydroxybutyric acid and acetoacetate in blood. *Biochem. J.*, 82 : 90, 1962.
- 2) Uno S, Ito T, Kurono M, Yamaoka Y, Kamiyama Y, Ozawa K : A simple and sensitive assay for blood ketone bodies using highly purified 3-hydroxybutyrate dehydrogenase. *Clin. Chim. Acta.*, 168 : 253, 1987.
- 3) Williamson DH, Lund P, Krebs HA : The redox state of free nicotinamide-adenine dinucleotide in the cytoplasm and mitochondria of rat liver. *Biochem. J.*, 103 : 514, 1967.
- 4) Lehninger AL, Sudduth HC, Wise JB : D-β-Hydroxybutyric dehydrogenase of mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 235 : 2450, 1960.
- 5) Schlichtig R, Klions HA, Kramer DJ, Nemoto EM : Hepatic dysoxia commences during O₂ supply dependence. *J. Appl. Physiol.*, 72 : 1499, 1992.
- 6) Ozawa K, Chance B, Tanaka A, Iwata S, Kitai T, Ikai I : Linear correlation between acetoacetate/β-hydroxybutyrate in arterial blood and oxidized flavoprotein/reduced pyridine nucleotide in freeze-trapped human liver tissue. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1138 : 350, 1992.
- 7) Kitai T, Tanaka A, Terasaki M, Okamoto R, Ozawa K, Morikawa S, Inubushi T : Energy metabolism of the liver in brain dead dog assessed by ³¹P-NMR spectroscopy and arterial ketone body ratio. *Life Sci.*, 45 : 511, 1991.
- 8) Ozawa K, Aoyama H, Yasuda K, Shimahara Y, Nakatani T, Tanaka J, Yamamoto M, Kamiyama Y and Tobe T : Metabolic abnormalities associated with postoperative organ failure : a redox theory. *Arch. Surg.*, 118 : 1245, 1983.
- 9) Ozawa K : Liver surgery approached through the mitochondria. The redox theory in evolution. Karger, Basel 1992.
- 10) Asonuma K, Takaya S, Selby R, Okamoto R, Yamamoto Y, Yokoyama T, Todo S, Ozawa K and Starzl TE : The clinical significance of the arterial ketone body ratio as an early indicator of graft viability in human liver transplantation. *Transplantation*, 51 : 163, 1991.
- 11) Ozawa K : Living related donor liver transplantation-Assessment of graft viability based on the redox theory. Karger, Basel 1994.
- 12) Dalton N : Arterial Ketone Body Ratio-The Importance of Going Beyond Standard Liver Tests. *European Clinical Laboratory*, 13(6) : 14, 1994.

※※、※■問い合わせ先■

株式会社三和化学研究所 コンタクトセンター

☎0120-19-8130

受付時間：月~金 9:00~17:00(祝日は除く)

FAX 052-950-1305

※■製造販売業者の氏名又は名称及び住所■

株式会社三和化学研究所

〒461-8631 名古屋市東区東外堀町35番地

TEL(052)951-8130