

Réactif du Glucose

Méthode Hexokinase

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	30 jours entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 42 mmol/L (756 mg/dL)
Nature de l'échantillon	:	Sérum, Plasma et Urine
Méthode	:	Point final
Préparation du réactif	:	Ajouter le volume spécifié d'eau distillée ou déminéralisée.

IVD

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

EC REP	Représentant Autorisé		Limites de température
IVD	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
LOT	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
REF	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xn - Nocif

UTILISATION PRÉVUE

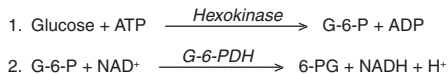
Ce réactif est prévu pour le diagnostic in vitro sert à la quantification du glucose dans le sérum, le plasma ou l'urine humains.

INTÉRÊT CLINIQUE

L'évaluation précise du glucose est importante dans le diagnostic et la gestion de l'hyperglycémie et de l'hypoglycémie. L'hyperglycémie peut provenir du diabète mellitus, chez les patients recevant en intraveineuse des fluides contenant du glucose, lors de stress sévères et d'accidents cérébrovasculaires. L'hypoglycémie peut provenir d'une insulinothérapie, de l'administration d'insuline, d'un trouble congénital du métabolisme des hydrates de carbone ou d'une diète.¹ Dans l'étude de ces troubles, des évaluations du glucose sont souvent effectuées en conjonction avec divers tests de tolérance ou de stimulation. Un livre de cours standard tel que le Kaplan contiendra une analyse plus détaillée du métabolisme du glucose.²

PRINCIPE DE LA MÉTHODE³

La méthode du hexokinase/glucose-6-phosphate déshydrogénase développée par l'Association Américaine de Biochimie et par les Centres épidémiologiques a été acceptée comme méthode de référence pour l'évaluation du glucose. Dans cette procédure, des filtrats exempts de protéines préparés par la technique de Somogyi utilisant un précipité ZnSO₄/BaSO₄. Cependant, l'utilisation de sérum ou plasma sans extraction des protéines est la méthode de routine préférée en laboratoire. Le réactif du glucose hexokinase est basé sur cette méthode de référence. La série des réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante :



1. L'hexokinase catalyse la phosphorylation du glucose par l'ATP qui produit de l'ADP et du glucose-6-phosphate.
2. Le glucose-6-phosphate est oxydé en 6-phosphogluconate avec la réduction du NAD⁺ en NADH par G-6-PDH. La quantité de NADH formée est proportionnelle à la concentration du glucose de l'échantillon et peut être mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

Abréviations

ATP	=	Adénosine-5'-triphosphate
ADP	=	Adénosine-5'-diphosphate
G-6-PDH	=	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
G-6-P	=	Glucose-6-phosphate
6-PG	=	6-phosphogluconate
NAD ⁺	=	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADH	=	NAD réduit

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

	Concentration
Triéthanolamine	20 mmol/L
ATP	1,65 mmol/L
NAD	1,06 mmol/L
Hexokinase (levure recombinante)	>1500 U/L
G-6-PDH (leuconostoc recombinant)	>1500 U/L
pH 7,3 ± 0,1 at 20°C	

PRECAUTIONS: Ne pas ingérer. Eviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Le réactif contient de l'Azide de sodium et est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre résiduels. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité sur le Réactif du Glucose Hexokinase contient des informations plus détaillées. L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec. Manipuler avec précaution les sertissages métalliques et les flacons en verre cassés, car les bords acérés peuvent blesser l'utilisateur.

R22 Nocif en cas d'ingestion.
S28 Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec savon et l'eau.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué sur l'étiquette du flacon.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation:

Stocké entre 2 et 8°C, le réactif est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les étiquettes des fioles et des boîtes de kit.

Réactif reconstitué:

Stocké entre 2 et 8°C, le réactif est stable pendant au moins 30 jours.

Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité;
- Absorbance du réactif >0,2 (340 nm, chemin optique 1 cm); et/ou;
- Impossibilité de retrouver les valeurs de contrôle dans la plage affectée.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

Collecte: La stabilité des spécimens de glucose est réduite par une contamination bactérienne et une glycolyse. Afin d'éviter une glycolyse, les échantillons doivent être collectés dans des tubes contenant du fluorure de sodium. Le sérum ou le plasma doit être séparé dès que possible des cellules.

Sérum: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Plasma: Utiliser de l'héparine.

Urine: Si un délai est prévu lors du transport jusqu'au laboratoire, l'utilisation d'un conservateur chimique tel que le merthiolate (0,23 mmol/L) est recommandée.⁶

Stockage: Le glucose du sérum est stable pendant 4 heures à 30°C et 24 heures à 4°C. En cas de stockage prolongé, les prélèvements doivent être mis dans des récipients scellés et gelés à -10°C.^{4,5} Les échantillons d'urine sont stables 1 jour à 4°C.⁸

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 340 nm (334-365 nm).
- Eau distillée ou désionisée pour la préparation du réactif et le matériel requis, par ex.: pipettes.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Serum de contrôle normal et pathologique.
- Étalon ou standard glucose aqueux adéquat.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Le paramétrage suivant est recommandé. Des applications selon les analyseurs utilisés sont disponibles sur demande auprès de notre Service Applications.

PARAMÈTRES DU SYSTÈME

Température	30/37°C
Longueur d'onde principale	340 nm (334 - 365nm)
Longueur d'onde secondaire	380 nm (380 - 410nm)
Type de dosage	Point final
Direction	Augmentation
Échantillon : Taux de réactif	1:100 - 1:150
p. ex. : Vol. échantillon	3 µL
Vol. réactif	300 µL
Temps d'incubation	180 secondes
Limites du réactif blanc	Basse 0,0 AU
(340 nm, chemin lumineux 1cm)	Haute 0,2 AU
Linéarité	jusqu'à 42 mmol/L (756 mg/dL)
Sensibilité	0,017 ΔA par mmol/L
(340nm, 1cm lightpath)	0,001 ΔA par mg/dL

CALCULS

Les résultats sont calculés, habituellement automatiquement par l'instrument, comme suit :

$$\text{Glucose} = \frac{\text{Absorbance de l'inconnu}}{\text{Absorbance de l'étalon}} \times \text{valeur de l'étalon}$$

Exemple :

Absorbance de l'étalon	=	0,23
Absorbance de l'inconnu	=	0,10
Valeur de l'étalon	=	13,1 mmol/L (236 mg/dL)

$$\text{Glucose} = \frac{0,10}{0,23} \times 13,1 = 5,7 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Glucose} = \frac{0,10}{0,23} \times 236 = 103 \text{ mg/dL}$$

Pour les spécimens d'urine, les résultats doivent être multipliés par le facteur de dilution et les collectes de 24 heures par le volume en litres.

$$\text{Glucose de l'urine (mmol/24 heures)} = \text{Résultat du glucose (mmol/L)} \times \text{Dilution Facteur} \times \text{Volume (litres)}$$

Exemple :

Résultat du glucose	=	0,7 mmol/L (12,6 mg/dL)
Dilution de l'urine	=	pure
Volume d'urine sur 24 heures	=	0,95 Litres

$$\text{Glucose de l'urine} = 0,7 \times 1 \times 0,95 = 0,67 \text{ mmol/24 hrs}$$

$$\text{Glucose de l'urine} = 12,6 \times 1 \times 0,95 = 11,97 \text{ mg/24 hrs}$$

REMARQUES

- Les volumes de réactif et d'échantillon peut être modifié en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
- L'essai peut être réalisé à 25°C ou à 30°C en augmentant le temps d'incubation respectivement à 10 minutes et à 6 minutes.
- Peut également être utilisé à 334 ou 365 nm.
- Les échantillons présentant des valeurs de glucose supérieures à 42 mmol/L (756 mg/dL) doivent être dilués avec une solution saline isotonique et dosés à nouveau. Multiplier les résultats par le facteur de dilution.
- Conversion d'unité : mmol/L x 18 = mg/dL.

CALIBRAGE

Le calibrage est obligatoire. Une solution aqueuse étalon ou un étalon à base de sérum, avec une valeur affectée traçable par rapport à un standard primaire (p. ex. NIST or IRMM) sont recommandés. Pour connaître la fréquence de calibrage des analyseurs de biochimie, se référer aux spécifications de la notice de fabrication. Cependant, la stabilité du calibrage est liée aux performances de l'analyseur ainsi qu'à l'utilisation des réactifs conservés dans les conditions décrites dans le paragraphe STABILITÉ ET CONSERVATION de cette notice. Un nouveau calibrage est recommandé, dans les situations suivantes :

- Changement de numéro du lot
- Maintenance préventive ou remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.
- Les contrôles ne sortent pas à l'intérieur de leur fourchette de tolérance, et l'addition d'un nouveau flacon de contrôle ne peut remédier à ce problème.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Pour garantir un contrôle adéquat de la qualité, des contrôles normaux et exceptionnels doivent être pratiqués sur des échantillons inconnus :

- Au moins toutes les huit heures
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisé.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes :

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats sont toujours en dehors de leur fourchette de tolérance, recalibrer à l'aide d'un calibrateur frais, et répéter le test.
- Si les mêmes problèmes de ciblage persistent, effectuer un calibrage avec du réactif fraîchement préparé, puis répéter le test.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service

LIMITES DE LA PROCEDURE

- Les études pour déterminer le niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie ont été effectuées et les résultats suivants ont été obtenus.

Hémoglobine: Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés.

Bilirubine: aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 340 µmol/L (20 mg/dL).

Lipémie: aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 5,6 mmol/L (500 mg/dL).

- Young DS[®] a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES

Sérum :⁹ 3,89 - 5,83 mmol/L (70 - 105 mg/dL)
Urine :⁹ 0,28 - 0,83 mmol/L (5 - 15 mg/dL)

L'O.M.S. recommande les critères suivants pour le diagnostic du diabète ou de l'hyperglycémie :¹⁰

	Plasma Veineux	Capillaire
Diabète		
Diète	≥7,8 mmol/L (≥140 mg/dL)	≥7,8 mmol/L (≥140 mg/dL)
2 h après charge de glucose	≥11,1 mmol/L (≥200 mg/dL)	≥12,2 mmol/L (≥200 mg/dL)
Hyperglycémie		
Diète	<7,8 mmol/L (<140 mg/dL)	<7,8 mmol/L (<140 mg/dL)
2 h après charge de glucose	7,8-11,1 mmol/L (140-200 mg/dL)	8,9-12,2 mmol/L (160-220 mg/dL)

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le Réactif du Glucose Hexokinase sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs devront établir les caractéristiques de la performance du produit sur leur propre analyseur.

IMPRÉCISION

L'imprécision a été évaluée avec deux niveaux de contrôle du commerce en respectant la procédure NCCLS EP5-T.¹¹

Dans la session:	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	5,44 / 98	16,11 / 290
SD (mmol/L / mg/dL)	0,08 / 1,4	0,09 / 1,7
CV (%)	1,4	0,6
Total:	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	5,44 / 98	16,11 / 290
SD (mmol/L / mg/dL)	0,17 / 3,0	0,43 / 7,8
CV (%)	3,1	2,7

COMPARAISON DE METHODES

Des études de comparaison ont été effectuées avec un réactif du glucose hexokinase du commerce comme référence. Des échantillons de sérum et de plasma de patients normaux et anormaux ont été analysés en parallèle. Les résultats ont été comparés par une régression des moindres carrés et les statistiques suivantes ont été obtenues :

Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	1,9 - 26,1 mmol/L (34 - 469 mg/dL)
Moyenne des mesures (référence)	5,4 mmol/L (97 mg/dL)
Moyenne des résultats (Glucose)	5,3 mmol/L (96 mg/dL)
Pente	0,97
Coordonnées à l'origine	0,12 mmol/L (2,18 mg/dL)
Coefficient de Corrélation	1,00

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 42 mmol/L (756 mg/dL).


SENSIBILITÉ

S'il est effectué selon les recommandations, la sensibilité du présent dosage est de 0,017 ΔA par mmol/L ou 0,001 ΔA par mg/dL (chemin lumineux de 1 cm, 340 nm).

RÉFÉRENCES

- Zilva JF, Pannall PR. Carbohydrate Metabolism in "Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment". Lloyd-Luke London 1979, Chap 9: 174-214.
- Kaplan LA, Pesce AJ (Ed) "Clinical Chemistry Theory, Analysis and Correlation". CV Mosby Company 1984.
- Farrance I. Clin Biochem Reviews 1987; 8: 55-68.
- Trinder P. Ann Clin Biochem. 1969; 6: 24.
- Pencock CA, et al. Clin Chem Acta 1973; 49: 193.
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4: 61-7.
- Young DS, et al. Clin Chem 1975; 5: 1D-432D.
- Caraway WT in 'Fundamentals of Clinical Chemistry' NM Tietz (Ed) W.B. Saunders, Philadelphia 1976; Chap 6: 242.
- Richterich R, Colombo JP. Klinische Chemie 4 Ed Basel: Karger 1978: 531.
- Farrance I, Garcia-Webb P. Clin Biochem Reviews 1987: 8: 48-50.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices NCCLS 1984; NCCLS publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
1520-200A	20 x 10 mL
TR15015	20 x 20 mL
TR15003/1520-500	10 x 50 mL
TR15004	10 x 200 mL