

Réactif du Glucose Enzymatique

Méthode de la Glucose Oxydase

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	3 mois à 2 et 8°C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 40 mmol/L (720 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

UTILISATION PRÉVUE

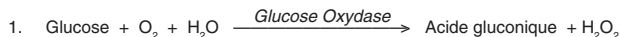
Ce réactif est prévu pour le diagnostic in vitro sert à la quantification du glucose dans le sérum, le plasma ou l'urine humains.

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 insuliniémie, 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 MÉTHODE

La réaction de la glucose oxydase associée à une réaction auxiliaire a été largement utilisée pour la quantification du glucose dans les fluides biologiques. De nombreuses réactions auxiliaires différentes ont été développées afin d'améliorer la précision globale du système réactif ou pour conserver la précision inhérente de la glucose oxydase.³ La méthode utilisée dans ce réactif est basée sur la réaction de l'indicateur du peroxyde d'hydrogène qui couple la 4-aminoantipyrine à un composé phénolique comme proposé en premier par Trinder.⁴ Cette méthode a été validée par une étude extensive de Pennock et al.⁵ Pennock a comparé la méthode de Trinder avec six autres méthodes habituelles et a trouvé sa justesse et sa précision très fiables. La méthode a été en outre démontrée résistante par Pennock⁵, Sharp⁶ et Szasz et al⁷ face aux composés interférants tels que l'acide urique, la glutathione et la créatinine.



- Le glucose est oxydé par la glucose oxydase en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène.
- Le peroxyde d'hydrogène réagit en présence de peroxydase avec la HBA et la 4-aminoantipyrine pour former une teinture de quinonéimine rouge. L'intensité de la couleur obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose et peut se mesurer par photométrie entre 460 et 560 nm.

Abréviations

HBA	=	4-acide hydroxybenzoïque
4-AAP	=	4-aminoantipyrine

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

	Concentration
Glucose oxydase	> 12,000 U/L
Péroxydase	> 60 U/L
4-aminoantipyrine	0,3 mmol/L
4-acide hydroxybenzoïque	6 mmol/L
Tampon phosphate	71 mmol/L

Contient également des compléments et stabilisateurs inertes.
pH 7,5 ± 0,10 à 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 Oxydase 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.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

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

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou déminéralisée 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 3 mois.

Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité;
- Absorbance du réactif >0,60 AU (500 nm, chemin optique 1 cm); et/ou;
- Impossibilité de retrouver les valeurs de contrôle dans la plage affectée.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

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-hémolysés.

Plasma : Utiliser l'héparine ou l'EDTA.

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.⁸

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.⁴

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 500 nm (460-560 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.
- Sérum 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	37°C
Longueur d'onde principale	500 nm (460 - 560 nm)
Longueur d'onde secondaire	600 - 660 nm
Type de dosage	Point final
Direction	Augmentation
Échantillon : Taux de réactif	1:150
p. ex. : Vol. échantillon	3 µL
Vol. réactif	450 µL
Temps d'incubation	10 minutes
Limites du réactif blanc	Basse 0,00 AU
(500 nm, chemin lumineux 1cm)	Haute 0,60 AU
Linéarité	jusqu'à 40 mmol/L (720 mg/dL)
Sensibilité	0,035 ΔA par mmol/L
(500 nm, chemin lumineux 1cm)	0,002 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 = 0,40
 Absorbance de l'inconnu = 0,10
 Valeur de l'étalon = 13,2 mmol/L (238 mg/dL)

$$\text{Glucose} = \frac{0,10}{0,40} \times 13,2 = 3,3 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Glucose} = \frac{0,10}{0,40} \times 238 = 59,5 \text{ mg/dL}$$

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.

Glucose de l'urine = Résultat du glucose x Dilution x Volume
 (mmol/24 heures) (mmol/L) Facteur (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

Glucose de l'urine = 0,7 x 1 x 0,95 = 0,67 mmol/24 hrs
 Glucose de l'urine = 12,6 x 1 x 0,95 = 11,97 mg/24 hrs

REMARQUES

- Les volumes de réactif et d'échantillon peut être modifié en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
- Les échantillons présentant des valeurs de glucose supérieures à 40 mmol/L (720 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.
- Éviter la lumière solaire directe.

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'une nouveau flacon de réactif est utilisée.
- 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 calibreur 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

- Des études ont été effectuées sur le niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine (libre et conjuguée), de la lipémie et de la ascorbate. Les résultats suivants ont été obtenus:

Hémoglobine : aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 1000 mg/dL.

Bilirubine libre : Aucune interférence avec la bilirubine libre jusqu'à 975 µmol/L (57 mg/dL).

Bilirubine conjuguée : Aucune interférence avec la bilirubine conjuguée jusqu'à 600 µmol/L (35 mg/dL).

Lipémie : aucune interférence avec la lipémie, mesurée sous la forme de triglycérides, jusqu'à 11,5 mmol/L (1000 mg/dL).

Ascorbate : aucune interférence avec l'ascorbate jusqu'à 0,71 mmol/L (12,5 mg/dL).

- La publication de Young examine plus en détail les facteurs affectant le dosage du glucose⁹.

VALEURS ATTENDUES

Sérum :¹⁰ 3,89 - 5,83 mmol/L (70 - 105 mg/dL)

Urine :¹¹ 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 :¹²

	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 Oxydase 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.¹³

Dans la session:	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	5,57 / 100,2	18,45 / 332,1
SD (mmol/L / mg/dL)	0,08 / 1,39	0,20 / 3,58
C.V. (%)	1,4	1,1

Total:	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	5,57 / 100,2	18,45 / 332,1
SD (mmol/L / mg/dL)	0,16 / 2,9	0,44 / 7,9
C.V. (%)	3,0	2,4

COMPARAISON DE METHODES

Des études de comparaison ont été effectuées avec un réactif du glucose oxydase du commerce comme référence. Des échantillons de sérum 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	0,2 - 36,2 mmol/L (3,6 - 651,6 mg/dL)
Moyenne des mesures (référence)	11,8 mmol/L (212,4 mg/dL)
Moyenne des résultats (Glucose)	11,9 mmol/L (214,2 mg/dL)
Pente	1,008
Coordonnées à l'origine	0,08 mmol/L (1,44 mg/dL)
Coefficient de Corrélation	0,998

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 40 mmol/L (720 mg/dL).

SENSIBILITÉ

S'il est effectué selon les recommandations, la sensibilité du présent dosage est de 0,035 ΔA par mmol/L ou 0,002 ΔA par mg/dL (chemin lumineux de 1 cm, 500 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.
- Penckock CA, et al. Clin Chem Acta 1973; 49: 193.
- Sharp P. Clin Chem Acta 1972; 40:115
- Szasz G, et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974; 12:256
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4:61-7.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990; 3:168-182.
- 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.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF**Information Commandes****No de Catalogue****Configuration**

TR15103/1530-500

10 x 50 mL

TR15104

10 x 200 mL

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

EC REP MDCl Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK

840337 (R1)

