

## Réactif Liquide Stable du L'Glucose Hexokinase

### CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	Jusqu'à péremption à 2 et 8 °C
Limites de linéarité	:	0 - 45 mmol/L (0 - 810 mg/dL)
Nature de l'échantillon	:	Sérum, Plasma et Urine
Méthode	:	Point final Enzymatique
Préparation du réactif	:	Fourni prêt à l'emploi.

**IVD**

### UTILISATION PRÉVUE

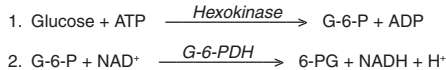
Ce réactif est prévu pour le diagnostic in vitro sert à la quantification du glucose dans le sérum, le plasma ou l'urine humains.

### 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 insulïnémie, de l'administration d'insuline, d'un trouble congénital du métabolisme des hydrates de carbone ou d'une diète.<sup>1</sup> 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.<sup>2</sup>

### PRINCIPE DE LA MÉTHODE<sup>3</sup>

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 ZnSO<sub>4</sub>/BaSO<sub>4</sub>. 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<sup>+</sup> 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 <sup>+</sup>	=	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADH	=	NAD réduit

### COMPOSITION DU RÉACTIF

#### Ingrédients actifs

	Concentration
Tampou	37,6 mmol/L
ATP	2,1 mmol/L
NAD	2,5 mmol/L
Hexokinase (levure recombinante)	>1500 U/L
G-6-PDH (leuconostoc recombinant)	>2500 U/L
pH 7,7 ± 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 Liquide Stable du L'Glucose Hexokinase Infinity contient des informations plus détaillées.

### PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le réactif est fourni prêt à l'emploi.

### STABILITÉ ET CONSERVATION

#### Avant utilisation :

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

#### Une fois le réactif ouvert :

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

### SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

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

### Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité;
- Absorbance du réactif >0,5 (340 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-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.<sup>4</sup>

**Stockage :** Dans du sérum ou du plasma séparé et non hémolysé, le glucose est stable pendant 72 heures au maximum à 4°C ou pendant huit heures à 25°C.<sup>2,5</sup> En présence de fluorure de sodium, le glucose est stabilisé pendant trois jours au maximum à température ambiante.<sup>6</sup> En cas de stockage prolongé, les prélèvements doivent être mis dans des récipients scellés et gelés à -10°C.<sup>7</sup> Les échantillons d'urine sont stables 1 jour à 4 °C.<sup>4</sup>

### MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Le cas échéant, des pipettes pour répartir précisément des volumes mesurés précisément.
- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 340 nm (334-365 nm).
- 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	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	1:150
p. ex. : Vol. échantillon	3 µL
Vol. réactif	450 µL
Temps d'incubation	3 minutes
Limites du réactif blanc	Basse 0,00 AU
(340 nm, chemin lumineux 1cm)	Haute 0,50 AU
Linéarité	0-45 mmol/L (0-810 mg/dL)
Sensibilité Analytique	0,038 ΔAbs par mmol/L
(340nm, 1cm lightpath)	(0,002 ΔAbs 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	=	0,30
Absorbance de l'inconnu	=	0,10
Valeur de l'étalon	=	13,2 mmol/L (238 mg/dL)

$$\text{Glucose} = \frac{0,10}{0,30} \times 13,2 = 4,4 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Glucose} = \frac{0,10}{0,30} \times 238 = 79 \text{ mg/dL}$$

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.

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

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

**REMARQUES**

- Les volumes de réactif et d'échantillon peut être modifié en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
- Peut également être utilisé à 334 ou 365 nm.
- Les échantillons présentant des valeurs de glucose supérieures à 45 mmol/L (810 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 une fois par jour ou conformément aux instructions du laboratoire.
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisé.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.
- Avec chaque calibrage.

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**

- Des études menées pour déterminer le niveau d'interférence entre l'hémoglobine, la bilirubine (libre ou conjuguée) et la lipémie, ont donné les résultats suivants :

**Hémoglobine:** Aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 470 mg/dL.

**Bilirubine libre:** Aucune interférence de la bilirubine à l'état libre jusqu'à 281 µmol/L (16,4 mg/dL).

**Bilirubine conjuguée:** Aucune interférence de la bilirubine sous sa forme conjuguée jusqu'à 298 µmol/L (17,4 mg/dL).

**Lipémie:** aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 23 mmol/L (2000 mg/dL).

- Young DS<sup>®</sup> a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

**VALEURS ATTENDUES**

Sérum à jeun :<sup>9</sup> 4,11 – 5,56 mmol/L (74 - 100 mg/dL)  
 Urine :<sup>9</sup> 0,06 – 0,83 mmol/L (1 - 15 mg/dL)

Pour le diagnostic du diabète, de la glycémie à jeun anormale (IFG) ou de la tolérance glucidique diminuée (IGT), l'OMS recommande les critères suivants :<sup>10</sup>

**Diabète**

Glycémie veineuse à jeun ≥7,0 mmol/L (≥126 mg/dL)  
 2 h après charge de glucose ≥11,1 mmol/L (≥200 mg/dL)

**IFG**

Glycémie veineuse à jeun 6,1-6,9 mmol/L (110-125 mg/dL)

**IGT**

Glycémie veineuse à jeun ≤7,0 mmol/L (≤126 mg/dL)  
 2 h après charge de glucose 7,8-11,0 mmol/L (140-199 mg/dL)

**MESURES**

Les données suivantes ont été obtenues avec le Réactif Liquide Stable du L'Glucose Hexokinase Infinity 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 au cours d'une période de 20 jours et en utilisant deux niveaux de contrôle du commerce et la procédure NCCLS EP5-T suivante.<sup>11</sup>

Dans la session:	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	5,09 / 91,6	19,27 / 346,9
SD (mmol/L / mg/dL)	0,08 / 1,44	0,26 / 4,68
C.V. (%)	1,6	1,4

Total:	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	5,09 / 91,6	19,27 / 346,9
SD (mmol/L / mg/dL)	0,20 / 3,6	0,85 / 15,3
C.V. (%)	3,9	4,4

**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 d'urine de patients normaux et anormaux ont été dosés en parallèle. Les résultats ont été comparés par une régression des moindres carrés et les statistiques suivantes ont été obtenues :

Sérum/plasma :	
Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	2,3 - 26,7 mmol/L (41,4 - 480,1 mg/dL)
Moyenne des mesures (référence)	6,25 mmol/L (112,5 mg/dL)
Moyenne des résultats du glucose HK Infinity	6,27 mmol/L (112,9 mg/dL)
Pente	1,021
Coordonnées à l'origine	-0,13 mmol/L (-2,34 mg/dL)
Coefficient de Corrélation	0,9993

**Urine:**

Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	0,0 - 44,0 mmol/L (0,0 - 792,0 mg/dL)
Moyenne des mesures (référence)	9,8 mmol/L (176 mg/dL)
Moyenne des résultats du glucose HK Infinity	10,4 mmol/L (187 mg/dL)
Pente	1,086
Coordonnées à l'origine	-0,29 mmol/L (-5,22 mg/dL)
Coefficient de Corrélation	0,9962

**LINÉARITÉ**


Utilisé selon les prescriptions, le dosage est linéaire entre 0 et 45 mmol/L (0 - 810 mg/dL).

**SENSIBILITÉ ANALYTIQUE**

S'il est effectué selon les recommandations, la sensibilité du présent dosage est de 0,038 ΔAbs par mmol/L ou 0,002 ΔAbs par mg/dL (trajet optique de 1cm, 340nm).

**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. Chap 54: 1032-1035.
- Farrance I. Clin Biochem Reviews 1987; 8: 55-68.
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4: 61-7.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. (2nd Ed) Burtis and Ashwood. 1994; Chap 22: 959.
- Chan et al; Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood. Clin Chem., 35; 315-317, 1989.
- Sherman S et al; Studies of the Stability of 18 Chemical constituents of Human Serum. Clin Chem. Vol 18, No. 12: 1498, 1972
- Young DS, et al. Clin Chem 1975; 5: 1D-432D.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. (4th Ed) Burtis, Ashwood & Bruns 2005; VII: 2270-2271.
- World Health Organisation Laboratory Diagnosis and Monitoring of Diabetes Mellitus. Reinauer H, et al. 2002; 16.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices NCCLS 1984; NCCLS publication EP5-T.

 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

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

840352 (R1)



© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

**REF**

**Information Commandes**

No de Catalogue	Configuration
TR15421	2 x 125 mL
1524-400H	4 x 100 mL (Hitachi)
TR15426	2 x 250 mL
TR15498	2 x 500 mL
TY15401	4 x 53 mL (Hitachi)