

## Utilisation

Pour la détermination quantitative du glucose dans le sérum. Pour le diagnostic *in vitro* uniquement. **Usage médical uniquement.**

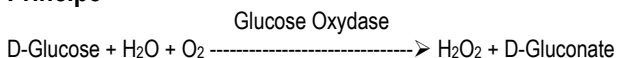
## Signification clinique

La détermination du glucose dans le sérum est le plus souvent effectuée pour le diagnostic et le traitement du diabète sucré.

## Historique

Les premières méthodes enzymatiques de détermination du glucose utilisaient la glucose oxydase pour catalyser l'oxydation du glucose en peroxyde d'hydrogène et en acide gluconique.<sup>1</sup> Le peroxyde d'hydrogène formé est mesuré par l'oxydation d'un chromagène.<sup>2</sup> De nombreux chromagènes ont été étudiés, mais beaucoup ont été écartés en raison de leur cancérrogénicité, de leur toxicité, de leur instabilité ou parce qu'ils étaient influencés par de nombreuses substances interférentes. Trinder<sup>3</sup> a modifié Emerson<sup>4</sup> pour développer un système efficace peroxydase-phénol-aminophénazone pour la quantification du peroxyde d'hydrogène par la formulation d'un colorant quinoneimine rouge. Cette méthode est moins influencée par les substances interférentes et ne souffre pas des nombreux inconvénients des méthodes précédentes.

## Principe



Le glucose est oxydé par la glucose oxydase en gluconate et en peroxyde d'hydrogène. Le phénol + 4-AAP + peroxyde d'hydrogène, en présence de peroxydase, produit un colorant quinoneimine qui est mesuré à 500 nm. L'absorbance à 500 nm est proportionnelle à la concentration de glucose dans l'échantillon.

## Composition

Glucose oxydase (microbienne) 12 000 u/l, peroxydase (raifort) > 1 000 u/l, 4-AAP >0,3mM, phénol 4mM, tampon, pH 7,4 ± 0,1, stabilisateurs non réactifs, conservateur. Voir "Précautions".

## Préparation du réactif

Le réactif est prêt à l'emploi.

## Stockage et stabilité du réactif

1. Le réactif doit être conservé au réfrigérateur à une température comprise entre 2 et 8 °C.
2. Le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée s'il est conservé conformément aux instructions.

## Précautions

1. Le réactif est destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
2. Le réactif ne doit pas être utilisé s'il présente une turbidité ou d'autres signes de croissance microbienne.
3. Le réactif ne doit pas être utilisé s'il ne répond pas aux exigences de linéarité ou s'il ne récupère pas les valeurs de contrôle dans l'intervalle indiqué.
4. Tous les échantillons et contrôles doivent être manipulés comme étant potentiellement infectieux, en utilisant des procédures de laboratoire sûres. (NCCLS M29-T2).<sup>5</sup>

## Collecte et stockage des échantillons

1. Il est recommandé d'utiliser du sérum non hémolysé ou du plasma hépariné.
2. Le sérum doit être séparé rapidement du caillot car le taux de diminution du glucose est d'environ 7 % par heure dans le sang total.<sup>6</sup>
3. Le glucose dans le sérum est stable pendant vingt-quatre heures lorsqu'il est conservé au réfrigérateur (2-8°C).
4. Les échantillons doivent être prélevés conformément au document H4-A3 du NCCLS.<sup>7</sup>

## Interférences

1. Les échantillons très lipémiques peuvent entraîner des valeurs de glucose faussement élevées.
2. La bilirubine à un niveau de 20 mg/dl et l'hémoglobine à un niveau de 500 mg/dl se sont toutes deux avérées présenter une interférence négligeable (<3%) dans ce test. NOTE : le taux de glucose était de 184 mg/dl pour l'étude de la bilirubine et de 188 mg/dl pour l'étude de l'hémoglobine.
3. Young et al<sup>8</sup> ont publié une liste complète des substances interférentes.

## Matériels fournis

Réactif Glucose.

## Matériels requis mais non fournis

1. Dispositifs de pipetage précis (1,0 ml et 10ul)
2. Tubes à essai
3. Chronomètre (pour mesurer dix minutes)
4. Spectrophotomètre capable de lire à 500 nm
5. Bloc chauffant (37°C)
6. Contrôles sériques avec des valeurs de glucose normales et anormales connues

## Procédure (automatisée-générale)

Longueur d'onde :	500 nm
Type de test :	Point final
Ratio échantillon/réactif :	1:101
Sens réaction :	En augmentation
Température :	37°C
Temps d'incubation :	600 secondes
Bas Normal :	70 mg/dl
Haut Normal :	105 mg/dl

## Procédure (manuelle)

1. Étiqueter les tubes à essai "blanc", "contrôle", "standard", "patient", etc.
2. Introduire à la pipette 1,0 ml de réactif de travail dans tous les tubes et les placer dans un bain chauffant à 37 °C pendant au moins cinq minutes.
3. Ajouter 0,01ml (10 ul) d'échantillon dans les tubes respectifs. Mélanger et incubé à 37°C pendant dix minutes.
4. Après incubation, mettre le spectrophotomètre à zéro avec le blanc réactif. Lire et enregistrer les absorbances de tous les tubes à 500nm (500-520nm).
5. Pour déterminer les résultats, voir la section "Calculs".

## Limites

1. Le réactif donne des résultats linéaires sur une plage de 0 à 500 mg/dl. Les échantillons qui dépassent 500 mg/dl doivent être dilués avec un volume égal de solution saline et dosés à nouveau. Multiplier le résultat par deux.
2. Si le spectrophotomètre utilisé nécessite un volume final supérieur à 1,0 ml pour une lecture précise, utiliser 0,03 ml (30ul) d'échantillon pour 3,0 ml de réactif. Effectuer le test comme décrit ci-dessus.
3. Un échantillon lipémique peut donner des résultats faussement élevés. Pour corriger la lipémie, un blanc sérique doit être effectué. Blanc sérique : ajouter 0,01ml (10ul) d'échantillon à 1,0ml d'eau. Mettre le spectrophotomètre à zéro avec de l'eau. Lire et enregistrer l'absorbance et soustraire la lecture de l'absorbance du test. Calculer comme d'habitude.

# Point Glucose (Oxydase) Kit de réactifs

## Calibration

Utiliser un étalon de glucose (100mg/dl) ou un calibrateur de sérum traçable au NIST. La procédure doit être étalonnée conformément aux instructions d'étalonnage du fabricant de l'instrument. Si les résultats du contrôle se révèlent hors limites, la procédure doit être recalibrée.

## Calculs

Abs. = Absorbance

$$\frac{\text{Abs. (Patient)}}{\text{Abs. (Standard)}} \times \text{Concentration du Standard} = \text{Glucose (mg/dl)}$$

Exemple:

$$\text{Abs. (Patient)} = 0.300$$

$$\text{Abs. (Standard)} = 0.200$$

$$\text{Concentration of Std.} = 100 \text{ mg/dl}$$

$$\text{Ensuite: } \frac{0.300}{0.200} \times 100 = 150 \text{ mg/dl}$$

## Unités SI

Pour obtenir les résultats en unités SI (mmol/L), il faut multiplier les résultats en mg/dl par dix pour convertir les dl en litres et diviser la valeur par 180, le poids moléculaire du glucose.

$$\text{mg/dl} \times \frac{10}{180} = \text{mg/dl} \times 0.0556$$

$$\text{Exemple: } 150 \text{ mg/dl} \times 0.0556 = 8.34 \text{ mmol/L}$$

## Contrôle qualité

Des contrôles sériques avec des valeurs de glucose normales et anormales connues doivent être effectués régulièrement pour contrôler la validité de la réaction. Ces contrôles doivent être effectués au moins à chaque poste de travail au cours duquel des dosages de glucose sont effectués. Les valeurs de contrôle doivent se situer dans les fourchettes établies pour les contrôles particuliers utilisés. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fréquence de détermination des contrôles.

## Valeurs attendues<sup>9</sup>

70-105mg/dl

Il est fortement recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fourchette de valeurs normales.

## Performance

- Plage de dosage : 0 - 500 mg/dl
- Corrélation : les résultats obtenus avec ce réactif (y) sur 132 échantillons, dont la concentration en glucose était comprise entre 32 et 297 mg/dl, ont été comparés à ceux obtenus sur les mêmes échantillons à l'aide d'un réactif en poudre sèche (x) basé sur la même méthodologie sur un analyseur automatisé. Le coefficient de corrélation était de 0,999 et l'équation de régression était  $y=1,02x -1,13$ . ( $Sy-x=15,43$ ).
- Précision : les études de précision ont été réalisées sur un analyseur automatisé en suivant une modification des directives contenues dans le document EP5-T2 du NCCLS.<sup>10</sup>

Sur une exécution			Au quotidien		
Moy.	S.D.	C.V.%	Moy.	S.D.	C.V.%
101	1.1	1.1	86	2.1	2.5
172	1.3	0.7	198	6.3	3.2
293	3.9	1.3	283	9.2	3.3

- Sensibilité : la sensibilité du réactif Glucose (Oxydase) a été étudiée en lisant le changement d'absorbance à 500 nm pour un échantillon salin et un sérum de concentration connue. Dix répétitions de chaque échantillon ont été effectuées. Les résultats de cette étude ont indiqué que, sur l'analyseur utilisé, le réactif Glucose (Oxydase) présentait peu ou pas de dérive de réactif sur un échantillon zéro. Dans les conditions de réaction décrites, 1 mg/dl de glucose donne une absorbance de 0,002.

## Références

- Keston, A.S., Abstr., 129<sup>th</sup> Meeting Amer. Chem. Soc., p 31 (1956).
- Teller, J.D., Abstr., 130<sup>th</sup> Meeting Amer. Chem. Soc., Atlantic City, N.J., p 69c (1956).
- Trinder, P., Ann. Clin. Biochem. 6:24 (1969).
- Emerson, E.J., et al, J. Org. Chem. 3:153 (1938) and 8:417 (1943).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2<sup>nd</sup> Ed. (1991).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 243 (1976).
- NCCLS document "Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", 3<sup>rd</sup> Ed. (1991).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p 155 (1970).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

## Symboles clés

Date d'utilisation (YYYY-MM-DD)	Numéro de lot	Reference catalogue
Fabricant	Limitation de température	Consulter le mode d'emploi
Dispositif médical de Diagnostic In Vitro <b>Rx Only</b> : A usage médical uniquement		

G7521			
-------	--	--	--

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188



European Authorized Representative:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

## Certifié pour l'utilisation des réactifs

Les réactifs Pointe sont certifiés comme étant fabriqués selon les paramètres spécifiés. Tout produit réactif Pointe non conforme aux spécifications jusqu'à sa date de péremption sera remplacé immédiatement et sans frais.