



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

G6-PDH Méthode cinétique U.V.

Réactif pour le dosage quantitatif de l'activité Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6-PDH)

[EC 1.1.1.49] dans le sérum humain, le plasma ou les érythrocytes.

REF 97089 R1 2 x 30 mL R2 1 x 3 mL R3 1 x 20 mL

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

support@biolabo.fr

Dernière révision : www.biolabo.fr



Made In France

I : correspond aux modifications significatives

I USAGE PREVU

Ce réactif est réservé pour un usage professionnel en laboratoire (méthode manuelle ou automatisée).

Il permet de quantifier l'activité Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6-PDH) pour évaluer son activité dans le sérum humain, le plasma ou les érythrocytes.

GENERALITES (1) (2)

La Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6-PDH) est une enzyme contenue dans les érythrocytes et intervenant dans la glycolyse.

Différents variants de G6-PDH, définis selon leurs profils électrophorétiques et cinétiques, sont fréquemment rencontrés et ont des conséquences cliniques dans différents groupes ethniques.

Une déficience en G6-PDH peut conduire à une anémie hémolytique suite à l'ingestion de 8-aminoquinoline antimalarienne, d'acide nalidixique, de nitrofurantoïne, phénacétine, de forte dose de vitamine C ou de certains sulfonamides ou sulfones. La déficience peut entraîner la maladie hémolytique du nouveau-né dans les populations asiatiques et méditerranéennes.

PRINCIPE (4) (5)

Le schéma de la réaction (méthode de Beutler et al.) est le suivant :



L'augmentation de la concentration en NADPH mesurée à 340 nm est proportionnelle à l'activité G-6-PDH dans le spécimen.

I REACTIFS

R1 G6-PDH Tampon-Coenzyme
NADP⁺ 310 mmol/L

DANGER :

Avant reconstitution :

Acute Tox. 2: H300 - Mortel en cas d'ingestion. Acute Tox. 4: H332 - Nocif par inhalation. Aquatic Chronic 2: H411 - Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Substances qui contribuent à la classification azide de sodium 2,5- < 10%; EDTA Na2 1,0- < 2.5%

R2 G6-PDH Substrat
Glucose 6 phosphate 0,6 mmol/L

ATTENTION :

Avant reconstitution,

Acute Tox. 4: H302 - Nocif en cas d'ingestion. Aquatic Chronic 3: H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Substances qui contribuent à la classification azide de sodium 1- < 2,5%

Vial R1 and R2 :

P280: Porter des gants de protection/des vêtements de protection/protection respiratoire/un équipement de protection des yeux/chaussures de protection. P301+P310: EN CAS D'INGESTION: Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P330: Rincer la bouche. P501: Éliminer le contenu et / ou les contenants conformément à la réglementation sur les déchets dangereux ou les emballages et déchets d'emballages.

Après reconstitution, les réactifs R1 et R2 ne sont pas classés comme dangereux selon le règlement CLP n° 1272/2008 (CE)

R3 G6-PDH Solution hémolysante
Digitonine 0,2 g/L

Conformément au Règlement CLP n° 1272/2008 (CE), le produit n'est pas classé comme dangereux.



PRECAUTIONS

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

I Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif 1: Verser sans délai 30 mL d'eau déminéralisée dans le flacon R1

Réactif 2: Verser sans délai 3mL d'eau déminéralisée dans le flacon R2.

Mélanger doucement jusqu'à dissolution.

La solution hémolysante (flacon R3) est prête à l'emploi.

STABILITE ET CONSERVATION

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :

- Jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après ouverture :

- Après reconstitution, les réactifs de travail (R1 et R2) sont stables au moins 1 mois en l'absence de contamination.
- Ne pas utiliser les réactifs de travail après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Rejeter tous réactif trouble.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (1)

Sérum non hémolysé, plasma (hépariné ou EDTA). L'oxalate et le fluorure ne doivent pas être utilisés.

Erythrocytes :

Préparer l'hémolysat de sang total comme indiqué :

1. Déterminer le taux d'hémoglobine (Hb en g/dL).
2. Laver 3 fois 0,2 mL de sang homogénéisé avec 2 mL de NaCl à 9 g/L. Centrifuger entre chaque lavage et éliminer le surnageant (veiller à ne pas éliminer d'érythrocytes).
3. Après le dernier lavage, remettre les érythrocytes en suspension dans 0,9 mL de solution hémolysante (flacon R 4).
4. Placer 15 minutes à 2-8°C puis centrifuger à nouveau. Utiliser le surnageant (Hémolysat) dans l'heure qui suit.

LIMITES (2) (3)

Ce dosage reflète également l'activité de la 6-Phosphogluconate déshydrogénase (6-PGD) laquelle génère une molécule de NADPH par molécule de 6-Phosphogluconate formée.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Spectrophotomètre (340nm, 37°C)
3. Solution NaCl 9 g/L

CONTRÔLE DE QUALITE

- REF 95089 Contrôle Normal G6-PDH
- REF 95289 Contrôle Déficier G6-PDH

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série
- Au moins un contrôle par 24 heures
- Changement de flacon de réactif
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Préparer un sérum de contrôle frais et répéter le test.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un flacon de calibrant frais.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, répéter le test en utilisant un autre flacon de réactif.

Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Dans les érythrocytes à 37°C

Unités conventionnelles	Unités internationales
UI/g d'Hb : 12,1 ± 2,09	MUI/mol d'Hb : [0,78 ± 0,13]
UI/10 ¹² Erythrocytes : 351 ± 60,6	nUI/Erythrocytes : [0,35 ± 0,06]
UI/mL d'érythrocytes : 4,11 ± 0,71	KUI/L d'érythrocytes : [4,11 ± 0,71]

Il est recommandé au laboratoire de définir ses propres valeurs usuelles.

Dans le sérum à 37°C

Valeurs normales : Activité G6-PDH non détectable

PERFORMANCES

Sur spectrophotomètre, 340nm, 37°C :

Spécimen : hémolysat

Limite de détection : environ 26 UI/L de sang.

Domaine de mesure: de 35 UI/L (LOQ) à 4000 UI/L.

Au-delà , diluer l'hémolysat avec une solution NaCl à 9 g/L et refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat. La limite de linéarité dépend du rapport de volume spécimen/réactif.

Précision :

Intra-série N = 18	Taux		Inter-série N = 15	Taux	
	bas	élevé		bas	élevé
Moyenne (UI/L)	264	537	Moyenne (UI/L)	276	535
S.D.(UI/L)	13,6	23,7	S.D.(UI/L)	16,0	25,5
C.V. %	5,2	4,4	C.V. %	5,8	4,8

Sensibilité analytique : 0,020 ΔAbs /1000 UI.L-1 de sang

Comparaison avec réactif du commerce (méthode cinétique UV) :

$$y = 1,0271x + 13,1$$

$$r = 0,9933$$

Interférences :

Turbidité	Pas d'interférence jusqu'à 0,281OD
Acide ascorbique	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L
Bilirubine totale	Interférence positive à partir de 90 μmol/L
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 11,1 g/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

CALIBRATION

La validité des résultats dépend de l'exactitude de la calibration de l'instrument, du juste décompte du temps, du respect du rapport volume réactif / volume spécimen et du contrôle de la température. Il est recommandé d'utiliser le facteur théorique (§ CALCUL) ou d'utiliser un calibrateur raccordé sur une méthode de référence ou un hémolysat de référence.

PROCEDURE

Méthode manuelle :

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Préparer l'hémolysat (voir § Prélèvement et préparation du spécimen)

Distribuer dans une cuvette de lecture thermostatée à 37°C :	Dosage sur Sérum	Dosage sur Hémolysat
Réactif 1	2 mL	3 mL
Sérum	1 mL	
Hémolysat		50 μL
Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C		
Réactif 2	100 μL	100 μL
Mélanger et lire l'absorbance initiale après 30 secondes à 340 nm puis toutes les minutes pendant 3 minutes. Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute (ΔAbs/min). Si l'activité est faible, le temps de mesure peut être allongé.		

CALCUL (2)

Sérum : UI/L = (ΔAbs/min) x 492

Erythrocytes : UI/L de sang = (ΔAbs/min) x 50 000

Résultats en unités par gramme d'Hémoglobine

$$\text{UI/g d'Hb} = \frac{(\Delta\text{Abs/min} \times 5\,000)}{\text{Hb exprimée en g/dL}}$$

Exemple : Si ΔAbs/min = 0,030 et Hb = 14.5 g/dL

$$\text{UI/g d'Hb} = \frac{0,030 \times 5000}{14,5} = 10,3$$

Résultats en unités pour 10¹² Erythrocytes (# Résultat en UI/g d'Hb x 29)

$$\text{UI/10}^{12} \text{ Erythrocytes} = \frac{(\Delta\text{Abs/min} \times 50\,000)}{\text{Nombre d'érythrocytes en } 10^{12} \text{ / Litre}}$$

Exemple : si ΔAbs/min = 0,030 et nombre d'érythrocytes = 4,2 . 10¹²/L

$$\text{UI/10}^{12} \text{ Erythrocytes} = \frac{0,030 \times 50\,000}{4,2} = 357$$

Résultats en unités par mL d'Erythrocytes (# Résultats UI/g Hb x 0,34)

$$\text{UI/mL d'Erythrocytes} = \frac{(\Delta\text{Abs/min} \times 5\,000)}{\text{Hématocrite (\%)}}$$

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. *Textbook of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1645-1650.
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 457-458.
- (3) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p. 3-294
- (4) BEUTLER et Al., *International committee for standardisation in Haematology : « Recommended Methods for Red Cell Enzyme Analysis » British Journal of Haematology*, (1977), 35, p.331-340.
- (5) BEUTLER E., *Red cell metabolism. : A manual of biochemical methods* (3rd Ed.) Orlando, Grune et Stratton (1984), p.68-70

 Fabricant	 Date de péremption	 In vitro diagnostic	 Température de conservation	 Eau déminéralisée	 Risque biologique
 Référence Produit	 Consulter la notice	 Numéro de lot	 Stocker à l'abri de la lumière	 Suffisant pour	 Diluer avec