

Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G-6-PDH)

Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G-6-PDH) Flacon à test unique

REF : G6-MK-1001 (10x1ml)

Utilisation

Le réactif G-6-PDH de NS BIOTEC est conçu pour l'estimation diagnostic UV et quantitative in-vitro de G-6-PDH dans le sang entier.

Rappel

La carence en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) est une des déficiences enzymatiques humaines les plus communes dans le monde. Lors d'un déficit en G-6-PDH, les globules rouges sont incapables de régénérer la nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADPH) réduite, une réaction normalement catalysée par l'enzyme G6PD. Puisque le chromosome X porte le gène pour l'enzyme G6PD, cette carence affecte essentiellement les hommes. Les deux principales conditions associées à un déficit en G6PD sont les anémies hémolytiques et les jaunisses néonatales, ces dernières peuvent être le résultat de complications neurologiques et de la mort. Le dépistage et la détection d'une déficience en G6PD aident à réduire de telles évènements et ce grâce à la sélection d'un traitement approprié, des conseils aux patients et l'abstinence vis-à-vis de médicaments déclencheurs tels que les anti malariaux et autres agents.

Méthode

Méthode cinétique-UV.

Principe de la méthode

Le G6PDH se trouvant dans les globules rouges est libéré par un agent de lyse présent dans le réactif. Le G6PDH libéré catalyse l'oxydation du glucose-6-phosphate en parallèle avec la réduction de NADP en NADPH. Le taux de réduction de NADP en NADPH est mesuré en tant qu'une augmentation en absorbance, qui est proportionnelle à l'activité de G6PDH dans l'échantillon.



Réactifs

Réactif 1a (**R1a**) : Réactif G6PDH à test unique
Réactif 1b (**R1b**) : Réactif diluent
Réactif 2 (**R2**) : Réactif substrat

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon. En cas de blessures sévères, consulter un médecin immédiatement.

Stockage du réactif et stabilité

Les réactifs sont fournis prêts à être utilisés. Lorsque stockés à 2-8°C, ils sont stables jusqu'à la date d'expiration mentionné sur l'étiquette. La solution de test G6PDH reconstituée est stable durant 8 heures à température ambiante (15-25°C) ou 5 jours réfrigérés à 2-8°C.

Collecte de l'échantillon et préparation

Le sang entier collecté en présence d'EDTA, d'héparine ou de ACD est satisfaisant. Le G-6-PDH dans les globules rouges est stable dans le sang entier durant une semaine à 2-8°C mais est instable dans l'hémolysate des globules rouges. Il n'est pas recommandé de geler le sang. Étant donné que l'activité est communiquée en termes de nombre de globules rouges ou de gramme d'hémoglobine ; le compte des globules rouges ou de la concentration d'hémoglobine doit être déterminée avant de réaliser le test G-6-PDH.

L'intégrité des érythrocytes recueillis en présence de ACD est préservée même après une conservation prolongée ce qui permet d'obtenir sans problème un compte généralement précis des globules rouges. Cependant, le compte des globules rouges issu d'un échantillon recueilli dans de l'héparine est beaucoup moins fiable après 2 jours. Ainsi, pour les échantillons héparinés, les résultats sont mieux lorsque communiqués en termes de concentration d'hémoglobine. Le cuivre, qui inhibent complètement l'enzyme à une concentration de 100 µmol/L, et les ions sulfate (0.005 mol/L) causent une baisse des valeurs observées de l'activité de G-6-PDH. Certains médicaments et autres substances sont connus pour influencer les taux de G-6-PDH circulants. Les réticulocytes ont un taux plus élevé de G-6-PDH que les globules rouges matures. C'est pour cela qu'il n'est pas recommandé que les tests soient réalisés après une crise hémolytique sévère, car le taux de G-6-PDH peut apparaître faussement élevé. Dans ces circonstances, la détection de la carence peut nécessiter des études familiales. Les tests peuvent être plus utile après que le taux de globules rouges mature soit de retour à la normal. En temps normal, l'activité apportée par les leucocytes, les plaquettes et le sérum est relativement basse. Toutefois, dans les cas d'anémie extrême, un compte de globules blancs nettement élevé ou un taux très bas de l'activité de G-6-PDH dans les globules rouges, peut avoir une contribution importante au total. Voir la section « Utilisation des échantillons exempt de couches leucocytaire ».

Préparation du réactif

Préparation du réactif G6PDH

Il est préparé par reconstitution du réactif G6PDH avec le volume de diluent indiquer sur le flacon. Remuer doucement et retourner plusieurs fois pour diluer le contenu. Patienter 2-3 minutes et mélanger de nouveau.

Réactif démarreur G-6-PDH

Il est fourni prêt à être utilisé.

Paramètre du système

Longueur d'onde	340 nm
Cuvette	1cm
Type de réaction	Cinétique-UV
Sens de la réaction	Croissant
Rapport échantillon : réactif	1 : 100
Température	30
Mesure	Contre de l'eau distillée
Temps de retard	300 sec
Temps d'intervalle	60 sec
NO. DE LECTURES	05
Absorbance limite du blanc	< 0.8
Facteur	4839
Normal bas à 30°C	4.6 µg Hb
Normal haut à 30°C	13.5 µg Hb
Linéarité à 30°C	19.5 µg Hb

Procédure

La température du mélange de réaction doit être maintenue à 30°C ou à une autre température constante (voir la section « Température de correction »).

1. Préparer le mélange de réaction

a) ajouter 0.01 ml de sang à 1.0 ml de la solution de travail G-6-PDH et mélanger méticuleusement afin de suspendre complètement les érythrocytes. Garder à température ambiante (18-26°C) durant 5-10 minutes.

b) ajouter 2.0 ml du réactif substrat directement à la fiole et mélanger doucement en la retournant plusieurs fois.

c) Transférer le contenu de la fiole dans une cuvette étiqueté Test & continuer l'étape 2.

2. Placer la cuvette dans un compartiment de cuvette à température constante ou dans un bain-marie et incubé environ 5 minutes afin d'obtenir un équilibre thermique.

3. Mesurer et noter l'absorbance (A) de la cuvette Test à 340 nm contre de l'eau ou une solution de dichromate de potassium. Cela correspond au A. INITIAL (si le bain-marie ou l'incubateur est utilisé, y retourner la cuvette).

4. Exactement 5 minutes plus tard, mesurer de nouveau et noter l'absorbance. Celle-ci correspond à A. FINAL.

5. Afin de déterminer l'activité de G-6-PDH, se référer à la section « Calcul ».

Calcul

$$\Delta A/\text{min} = \frac{A_{\text{Final}} - A_{\text{Initial}}}{5}$$

L'activité de G-6-PDH est exprimée en U/10¹² érythrocytes (globules rouges) ou U/g hémoglobine (Hb).

$$\text{G6PDH (U/10}^{12} \text{ globules rouges)} = A/\text{min} \times \frac{48,390}{N} \times \text{TCF}$$

Où,

N = compte de globules rouges divisé par 10⁶
TCF = Facteur de correction de température (1 à 30°C)

$$\text{G6PDH (U/g Hb)} = A/\text{min} \times \frac{4839}{\text{Hb (g/dL)}} \times \text{TCF}$$

EXEMPLE :

Test d'un échantillon dont le compte de globules rouges est de 4.6 x 10⁶ / mm³ et la concentration d'hémoglobine est de 15.2 g/dL ont donné une absorbance/mi, de 0.026 à 30°C.

$$\text{G6PDH (U/10}^{12} \text{ globules rouges)} = 0.026 \times \frac{48,390}{4.6} = 273.5$$

$$\text{G6PDH (U/g Hb)} = 0.026 \times \frac{4839}{15.2} = 8.27$$

Note : Si A est supérieure à 0.060, répéter le test en utilisant 5 µL de sang et multiplier les résultats par 2.

CALIBRATION

La procédure est standardisée selon l'absorption millimolaire de NADPH, qui est de 6.22 à 340 nm. La conversion oxydative de G-6-P par G-6-PDH entraîne la réduction de NADP en NADPH sur une base d'équivalent molaire. La mesure du taux d'augmentation en absorbance (A) à 340 nm permet de quantifier l'activité enzymatique. L'activité maximale de G-6-PDH pouvant être mesurée par cette procédure est d'environ 650 U/10¹² globules rouges ou 19.5 U/g Hb.

UTILISATION D'UN ÉCHANTILLON EXEMPT DE COUCHE LEUCOCYTAIRES

Dans des conditions normales, l'activité de G-6-PDH apportée par les leucocytes, les plaquettes et le sérum est relativement basse. Cependant comme dénoncé par Echler et d'autres, une mesure plus précise de l'activité de G-6-PDH, particulièrement lors d'anémie ou de leucocytose, peut être obtenue en utilisant des échantillons exempts de couche leucocytaire pour le test. Ainsi, en cas d'obtention de valeurs limites obtenues avec du sang entier, il peut être justifié de répéter le test avec un échantillon exempt de couche leucocytaire.

Correction de la température

Lorsque la température est de 30°C, aucun facteur de correction de température (TCF) est nécessaire pour les calculs. Si le test est réalisé à température ambiante, autre qu'à 30°C, un TCF doit être utilisé. Lorsque la température est de 37°C, le TCF est de 0.66.

Linéarité

Le test est linéaire jusqu'à 19.5 µg Hb.

Valeurs recommandées

Activité de G6PDH (U/g Hb) :	4.6-13.5 à 30°C
	6.4-18.7 à 37°C
(U/10 ¹² globules rouges) :	146-376 à 30°C
	202-522 à 37°C

Note :

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse et maintienne ses propres valeurs de référence. Les données fournies sont uniquement un indicateur.

NS BIOTEC n'interprète pas les résultats de procédures de laboratoire clinique ; l'interprétation des résultats est considérée la responsabilité d'un personnel médical qualifié. Toutes les informations ayant une importance clinique sont appuyées sur des références scientifiques.

Traitement des déchets

Ce produit est fabriqué pour être utilisé dans des laboratoires professionnels. Consulter la réglementation locale pour la procédure de traitement des déchets.

S56 : Éliminer ce matériel et son emballage dans un contenant de collecte de déchets dangereux ou spéciaux.

S57 : Utiliser un contenant adapté afin d'éviter la contamination de l'environnement.

S61 : Éviter toute élimination dans la nature ; se référer aux fiches de sécurité.

Références

S.K. Sood et al., The Indian journal of path and micro., 24 (1981), 89.
Lubin, B.H. and Oski, F.A., J. Pediatr. 70 (1967), 788.



NS BIOTEC

MEDICAL EQUIPMENT

66 Port Said St., Camp Shezar

Alexandria – Egypt

Tele: 002 03 592 0902

Fax : 002 03 592 0908

Website: www.nsbiotec.com

E- mail : info@nsbiotec.com



CMC Medical Devices &
Drugs S.L.
C/ Horacio Lengo, 18.
29006. Málaga, Spain