



# Fructosamina

AA

Método colorimétrico (NBT) para la determinación de fructosamina en suero o plasma

## SIGNIFICACION CLINICA

La patología más común relacionada con el metabolismo de los hidratos de carbono es la diabetes mellitus. El diagnóstico precoz y el control de los pacientes diabéticos, tienen por objeto evitar la cetoacidosis y las complicaciones resultantes de la hiperglicemia, mediante el tratamiento adecuado. Dado que existen múltiples factores causales de hiper- o hipoglicemia, debe considerarse en cada caso la condición fisiológica y/o la patología presente en el paciente.

Las proteínas glicosiladas (fructosaminas) se forman por enlace covalente de la glucosa con residuos lisina de las proteínas sanguíneas (principalmente albúmina) dando lugar a bases de Schiff que en una segunda etapa son transformadas irreversiblemente en cetoaminas (fructosaminas). Esta reacción es dependiente de la concentración de glucosa sanguínea y del tiempo de interacción con las proteínas. Las fructosaminas permanecen en sangre actuando como "memoria glicémica" hasta ser metabolizadas de manera análoga a las demás proteínas del suero. Como consecuencia, la concentración de fructosamina representa en forma retrospectiva, un índice de la media de las fluctuaciones de la concentración de glucosa sanguínea, dos a tres semanas previas a la realización del análisis.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

El método se basa en la propiedad del grupo cetoamino de las proteínas glicosiladas de reducir la sal de tetrazolio (NBT) en medio alcalino, a formazán, el cual se mide colorimétricamente a 530 nm. La velocidad de formación del formazán es directamente proporcional a la concentración de fructosamina presente en la muestra.

## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución conteniendo nitroblue tetrazolio (NBT) 0,25 mmol/l en buffer carbonato 0,2 mol/l.

**S. Standard\*:** liofilizado conteniendo proteínas glicosiladas de origen animal, en una concentración entre 200 - 700  $\mu$ mol/l de albúmina glicosilada (1,7 - 6,1 mmol/l de DMF, desoximorfolinofructosa). La concentración, variable lote a lote, figura en el rótulo.

## REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua bidestilada o desionizada.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** listo para usar.

**Standard:** reconstituir con 1 ml de agua destilada medida exactamente con micropipeta de precisión o pipeta de doble

aforo. Tapar y mezclar suavemente por inversión. No agitar. Dejar reposar unos 60 minutos a temperatura ambiente, mezclando por inversión ocasionalmente. Fechar. Inmediatamente antes de usar, homogeneizar por inversión.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Conservar el Reactivo A al abrigo de la luz.

**Standard reconstituido:** estable 15 días en refrigerador (2-10°C) o 45 días congelado (-20°C) y alicuotado.

## MUESTRA

Suero o plasma

**a) Recolección:** se debe obtener suero de la manera usual o plasma con heparina o EDTA. Ver VALORES DE REFERENCIA.

**b) Sustancias interferentes conocidas:** las muestras con hemólisis visible o intensa no pueden ser empleadas. No se observan interferencias por triglicéridos hasta 10 g/dl, bilirrubina hasta 20 mg/l, ácido úrico hasta 150 mg/l y hemólisis ligera. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**c) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** las muestras deben ser preferentemente frescas. En caso de no procesarlas en el momento, pueden conservarse hasta 7 días refrigeradas (2-10°C) o 2 meses congeladas (-20°C).

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

## CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 530 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (490 - 530 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C

- Tiempo de reacción: 15 minutos
  - Volumen de muestra: 50 ul
  - Volumen final de reacción: 1,05 ml
- Los volúmenes de Muestra y Reactivo A pueden variarse proporcionalmente (ej.: 100 ul Muestra + 2 ml Reactivo A).

### PROCEDIMIENTO

En dos tubos marcados S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	S	D
<b>Standard</b>	50 ul	-
<b>Muestra</b>	-	50 ul
<b>Reactivo A</b>	1 ml	1 ml

Mezclar bien y colocar en baño de agua a 37°C. Disparar inmediatamente el cronómetro. Leer la absorbancia de la Muestra y del Standard a los 10 minutos (S<sub>1</sub> o D<sub>1</sub>) y a los 15 minutos (S<sub>2</sub> o D<sub>2</sub>) en espectrofotómetro a 530 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm) llevando el aparato a cero con agua destilada.

### CALCULO DE LOS RESULTADOS

La diferencia de absorbancia entre las dos lecturas es proporcional a la concentración de fructosamina, por lo tanto el cálculo es el siguiente:

fructosamina (umol/l o mmol/l) = (D<sub>2</sub> - D<sub>1</sub>) x f

$$f = \frac{C^*}{S_2 - S_1}$$

\* Concentración del Standard en umol/l (albúmina glicosilada) o mmol/l (DMF)

### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

**Fructosamina Control 2 niveles** de Wiener lab.

### VALORES DE REFERENCIA

205 - 285 umol/l (albúmina glicosilada)

1,9 - 2,9 mmol/l (DMF)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia teniendo en cuenta edad, sexo, hábitos alimenticios y otros factores.

Se pueden observar valores disminuidos en pacientes con pérdidas elevadas de albúmina o en enfermedades del catabolismo proteico.

Se ha encontrado que los niveles de fructosamina plasmática son levemente inferiores a los de fructosamina sérica.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Los reductores disminuyen la respuesta de color, mientras que los oxidantes colorean el Reactivo aumentando los Blancos.

Se recomienda realizar una recalibración semanal o cada vez que se obtengan valores fuera del rango aceptable de los controles (Fructosamina Control 2 niveles).

### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando simultáneamente 20 replicados de las mismas muestras, se obtuvieron los siguientes datos:

Nivel	C.V.
265 umol/l (2,3 mmol/l)	1,3 %
731 umol/l (6,3 mmol/l)	0,7 %

**b) Linealidad:** la reacción es lineal hasta 800 umol/l (7 mmol/l DMF). Para valores superiores, diluir al 1/2 la solución coloreada final con el Reactivo y repetir la lectura multiplicando el resultado final por 2.

**c) Recuperación:** agregando cantidades conocidas de fructosamina a distintas muestras se obtuvo una recuperación entre el 95 y el 99,6%.

**d) Sensibilidad analítica:** basada en una lectura mínima del instrumento de 0,001 D.O., el mínimo cambio de concentración detectable en estas condiciones será aproximadamente 35 umol/l de albúmina glicosilada.

### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del analizador en uso.

### PRESENTACION



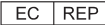


















- 2 x 50 ml (Cód. 1400050).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009281).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009381).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009615).


### BIBLIOGRAFIA

- Ambruster, D.A. - Clin. Chem. 33/12:2153 (1987).
- Baker, J.R. - Clin. Chem. 31/9:1550 (1985).
- Scheicher, E.D. and Vogt, B.W. - Clin. Chem. 36/1:136 (1990).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

# Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

	Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"		Elaborado por:
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Nocivo
	Uso diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Caústico
	Contenido suficiente para <n> ensayos		Irritante
	Fecha de caducidad		Consultar instrucciones de uso
	Límite de temperatura (conservar a)		Calibrador
	No congelar		Control
	Riesgo biológico		Control Positivo
	Volumen después de la reconstitución		Control Negativo
	Contenido		Número de catálogo
	Número de lote		

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
Cert. N°: 4831/03



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina