



Glicemia

enzimática

Método enzimático para la determinación de glucosa en suero o plasma

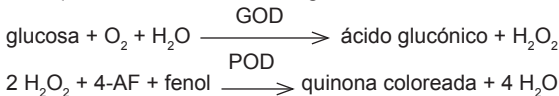
SIGNIFICACION CLINICA

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 de los síntomas 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 en cuestión.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El esquema de reacción es el siguiente:



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de 4-aminofenazona 25 mmol/l en Buffer Tris 0,92 mol/l.

B. Reactivo B: solución de fenol 55 mmol/l.

C. Reactivo C: solución de glucosa oxidasa (1000 U/ml) y peroxidasa (120 U/ml).

S. Standard: solución de glucosa 1 g/l.

Concentraciones finales

GOD	≥ 3000 U/l
POD	≥ 400 U/l
4-AF	1,25 mM
Fenol	2,75 mM
pH	7,4 ± 0,1

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada. Ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Standard: listo para usar.

Reactivo A: listo para usar.

Reactivo B: listo para usar. Ver PRECAUCIONES.

Reactivo C: homogeneizar por inversión antes de usar, evitando la formación de espuma.

Reactivo de Trabajo: de acuerdo al volumen de trabajo, colocar en una probeta 500 partes de agua destilada, 50 partes de Reactivo A, 50 partes de Reactivo B y llevar a 1000 partes con agua destilada. Agregar 3 partes de Reactivo C previamente homogeneizadas. Mezclar por inversión, sin agitar. Rotular y fechar. Pueden prepararse distintas cantidades respetando las proporciones antedichas. Es importante además, respetar el orden de agregado de los reactivos y asegurar una perfecta

homogeneización de los mismos, a fin de que el Reactivo B no deteriore el Reactivo de Trabajo.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo B (fenol) es nocivo y corrosivo. H301 + H311 + H331 Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.

H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

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. No mantener a temperaturas elevadas durante lapsos prolongados.

Reactivo de Trabajo: en refrigerador (2-10°C) y en frasco color caramelo es estable un mes a partir de la fecha de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Durante el uso, el Reactivo de Trabajo puede desarrollar un ligero color rosado que no afecta su funcionamiento siempre que se procese un Blanco con cada lote de determinaciones y un Standard periódicamente. Desechar cuando las lecturas del Blanco sean superiores a 0,160 D.O. o las lecturas del Standard sean anormalmente bajas.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener suero o plasma de la manera usual. Cuando no es posible extraer sangre venosa o en casos de extrema urgencia, la determinación se puede realizar en sangre capilar.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de Anticoagulante G de Wiener lab. para su obtención (el mismo contiene fluoruro como conservador).

c) Sustancias interferentes conocidas: los sueros o plasmas con hemólisis visible o intensa deben ser desproteinizados.

No se observan interferencias por: bilirrubina hasta 200 mg/l,

ácido ascórbico hasta 75 mg/l, ácido úrico hasta 200 mg/l, hemólisis ligera.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: los hematíes y leucocitos son los responsables de la destrucción enzimática de la glucosa sanguínea, siendo máxima a 37°C, razón por la cual debe centrifugarse la sangre dentro de las dos horas posteriores a la extracción, hasta obtener un sobrenadante límpido y transferir a otro tubo para su conservación. En estas condiciones la glucosa es estable 4 horas a temperatura ambiente o 24 horas refrigerada (2-10°C). En caso de no poder procesarse la muestra de la forma antes indicada, deberá adicionarse un conservador en el momento de la extracción para inhibir la glucólisis.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Material volumétrico adecuado.
- Frasco de vidrio color caramelo.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 505 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 20 ul
- Volumen de Reactivo de Trabajo: 2 ml
- Volumen final de reacción: 2,02 ml

Los volúmenes de Muestra y de Reactivo pueden variarse proporcionalmente (Ej.: 50 ul de Muestra + 5 ml de Reactivo de Trabajo).

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco) S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Standard	-	20 ul	-
Muestra	-	-	20 ul
Reactivo de Trabajo	2 ml	2 ml	2 ml

Incubar 10 minutos en baño de agua a 37°C. Luego leer en espectrofotómetro a 505 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm) llevando el aparato a cero con el blanco.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de reacción final es estable 1 hora, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{glucosa g/l} = D \times f \quad \text{donde } f = \frac{1,00 \text{ g/l}}{S}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de glicemia, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Se analizaron con **Glicemia enzimática**, 120 muestras de individuos en ayunas, de ambos sexos, con edades comprendidas entre 20 y 45 años, provenientes de la ciudad de Rosario (Argentina), sin síntomas de diabetes o cualquier otra enfermedad aparente. Se encontró que el 95% de los resultados cubrieron el siguiente rango:

Suero o plasma: 0,70 a 1,10 g/l

En la literatura (Tietz, N.W.) se menciona el siguiente rango de referencia:

Suero o plasma: 0,74 - 1,06 g/l

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

CONVERSION DE UNIDADES

$$\text{Glucosa (g/l)} = \text{Glucosa (mg/dl)} \times 0,01$$

$$\text{Glucosa (mg/dl)} \times 0,0555 = \text{Glucosa (mmol/l)}$$

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. Dichos agentes son frecuentemente encontrados en el agua destilada empleada para preparar el Reactivo de Trabajo, por lo que se recomienda controlar la calidad de la misma.

Los detergentes, metales pesados y cianuros son inhibidores enzimáticos.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en 10 días diferentes, se obtuvo lo siguiente:

Nivel	D.S.	C.V.
1,00 g/l	± 0,022 g/l	2,37 %
2,00 g/l	± 0,030 g/l	1,50 %

b) Recuperación: agregando cantidades conocidas de glucosa a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 99 y 101%.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 4,5 g/l. Para valores superiores, diluir 1/2 la solución coloreada final con el Reactivo de Trabajo y repetir la lectura multiplicando el resultado final por dos.

d) Exactitud: empleando el método de la hexoquinasa como referencia, se observa que la correlación estadística entre ambos métodos es excelente ($r = 0,99$).

e) Sensibilidad: el mínimo límite de detección es 0,0054 g/l y la sensibilidad analítica es de 0,042 g/l.

PRESENTACION


- 1000 ml (Cód. 1400101)

BIBLIOGRAFIA

- Henry, R.J.; Cannon, D.C; Winkelman, J. - Clinical Chemistry, Principles and Techniques, 2nd. ed., Harper and Row Publishers Inc. N.Y. (1974) p. 1288.
- Lott, J.A. and Turner, K. - Clin. Chem. 21, 1754-1760 (1975).
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3rd Ed. - Saunders Co., 1999.
- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem., 6/24 (1969).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Ziegenhorn, J.; Newman, U.; Hegen, A. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15/1:13 (1977).
- Caraway - Stand. Meth. Clin. Chem. 4:240 (1963).

SIMBOLOS

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"


 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 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.
Disp. N°: 1357/79-318/00-600/08



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina