

Utilização prevista

Para a determinação quantitativa de glicose no soro. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*. **Rx Only**

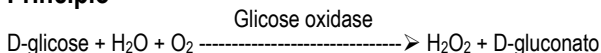
Relevância clínica

A determinação de glicose no soro é normalmente realizada para o diagnóstico e tratamento de diabetes mellitus.

Resumo do teste

Os primeiros métodos enzimáticos de determinação de glicose utilizavam a Glicose Oxidase para catalisar a oxidação da glicose em peróxido de hidrogênio e ácido glucônico.¹ O peróxido de hidrogênio formado é medido pela oxidação de um cromogênio.² Foram investigados muitos cromogênios, mas muitos deles foram descartados devido à possível carcinogenicidade, toxicidade, instabilidade ou porque foram afetados por muitas substâncias interferentes. Trinder³ modificou Emerson⁴ para desenvolver um sistema de peroxidase-fenol-aminofenazona eficiente para a quantificação de peróxido de hidrogênio pela formulação de um corante vermelho de quinoneimina. Este método não é tão influenciado por substâncias interferentes e não sofre das muitas desvantagens dos métodos anteriores.

Princípio



A glicose é oxidada pela glicose oxidase em gluconato e peróxido de hidrogênio. O Fenol + 4-AAP + peróxido de hidrogênio, na presença de peroxidase, produz um corante de quinoneimina que é medido a 500nm. A absorvância a 500 nm é proporcional à concentração de glicose na amostra.

Composição do reagente

Glicose oxidase (microbiana) 12000 u/L, peroxidase (rábano) > 1000 u/L, 4-AAP >0,3 mM, Fenol 4 mM, tampão, pH 7,4 ± 0,1, estabilizadores não reativos, conservante. Consulte "Precauções".

Preparação dos reagentes

O reagente está pronto a utilizar.

Armazenamento e estabilidade dos reagentes

1. O reagente deve ser armazenado refrigerado a 2-8°C.
2. O reagente mantém-se estável até à data de validade indicada quando armazenado conforme as instruções.

Precauções

1. O reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. O reagente não deve ser utilizado caso tenha desenvolvido turvação ou outros sinais de crescimento microbiano.
3. O reagente não deve ser utilizado se não cumprir as declarações de linearidade ou se não recuperar os valores de controlo no intervalo indicado.
4. Todas as amostras e controlos devem ser manuseados como potencialmente infecciosos, utilizando procedimentos laboratoriais seguros. (NCCLS M29-T2).⁵

Colheita e armazenamento de amostras

1. Recomenda-se a utilização de soro não hemolisado ou plasma heparinado.
2. O soro deve ser rapidamente separado do coágulo, dado que a taxa de diminuição de glicose é de aproximadamente 7% por hora no sangue total.⁶
3. A glicose no soro mantém-se estável durante vinte e quatro horas quando armazenado refrigerado (2-8°C).
4. As amostras devem ser colhidas de acordo com o documento NCCLS H4-A3.⁷

Interferências

1. As amostras manifestamente lipémicas podem causar valores de glicose erradamente elevados.
2. Verificou-se que a bilirrubina até ao nível de 20 mg/dL e a hemoglobina até um nível de 500 mg/dL apresentam uma interferência negligenciável (<3%) neste ensaio. NOTA: O nível de glicose foi de 184 mg/dL no estudo de bilirrubina e de 188 mg/dL no estudo de hemoglobina.
3. Young, et al⁸ publicaram uma lista exaustiva de substâncias interferentes.

Materiais fornecidos

Reagente de glicose.

Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Dispositivos de pipetagem precisos (1,0 mL e 10 uL)
2. Tubos de ensaio
3. Temporizador (para contar dez minutos)
4. Espectrofotómetro com capacidade de leitura a 500 nm
5. Bloco de aquecimento (37°C)
6. Controlos de soro com valores de glicose normais e anormais conhecidos

Procedimento (automatizado geral)

Comprimento de onda:	500 nm
Tipo de ensaio:	Endpoint
Relação amostra/reagente:	1:101
Direção de reação:	Ascendente
Temperatura:	37°C
Tempo de incubação:	600 segundos
Baixo normal:	70 mg/dL
Alto normal:	105 mg/dL

Procedimento (manual)

1. Coloque rótulos nos tubos com a indicação "branco", "controlo", "padrão", "paciente", etc.
2. Coloque 1,0 mL de reagente de trabalho em todos os tubos com uma pipeta e coloque numa cuba de aquecimento a 37°C durante, pelo menos, cinco minutos.
3. Adicione 0,01 mL (10 uL) de amostra nos respetivos tubos. Misture e incube a 37°C durante dez minutos.
4. Após a incubação, reponha o espectrofotómetro a zero com o branco de reagente. Leia e registre as absorvâncias de todos os tubos a 500 nm (500-520 nm).
5. Para determinar os resultados, consulte a secção "Cálculos".

Limitações

1. O reagente fornece resultados lineares no intervalo de 0-500 mg/dL. As amostras que excedem 500 mg/dL devem ser diluídas com um volume igual de solução salina e novamente submetidas a ensaio. Multiplique o resultado por dois.
2. Se o espectrofotómetro utilizado exigir um volume final superior a 1,0 mL para uma leitura precisa, utilize 0,03 mL (30 uL) de amostra para 3,0 mL de reagente. Realize o teste conforme descrito acima.
3. Uma amostra lipémica pode fornecer resultados erradamente elevados. Para corrigir a lipemia, um branco de soro deve ser submetido a ensaio. Branco de soro: Adicione 0,01 mL (10 uL) de amostra a 1,0 mL de água. Reponha o espectrofotómetro a zero com água. Leia e registre a absorvância e subtraia a leitura da absorvância do teste. Calcule como habitualmente.

Calibração

Utilize um padrão de glicose rastreável ao NIST (100 mg/dL) ou calibrador de soro. O procedimento deve ser calibrado de acordo com as instruções de calibração do fabricante do instrumento. Se os resultados do controlo estiverem fora do intervalo, o procedimento deve ser recalibrado.

Coni de Glicose (Oxidase) Pointe

Cálculos

Abs. = Absorvância

$$\frac{\text{Abs. (Paciente)}}{\text{Abs. (Padrão)}} \times \text{Concentração de Padrão} = \text{Glicose (mg/dL)}$$

Exemplo:

Abs. (Paciente) = 0,300

Abs. (Padrão) = 0,200

Concentração de Pdr. = 100 mg/dL

$$\text{Então: } \frac{0,300}{0,200} \times 100 = 150 \text{ mg/dL}$$

Unidades do SI

Para obter resultados em unidades do SI (mmol/L), multiplique os resultados em mg/dL por dez para converter dL em litros e divida o valor por 180, o peso molecular da glicose.

$$\text{mg/dL} \times \frac{10}{180} = \text{mg/dL} \times 0,0556$$

Exemplo: $150 \text{ mg/dL} \times 0,0556 = 8,34 \text{ mmol/L}$

Controlo da qualidade

Os controlos de soro com valores de glicose normais e anormais conhecidos devem ser executados rotineiramente para monitorizar a validade da reação. Estes controlos devem ser efetuados, pelo menos, em cada turno de trabalho em que sejam realizados ensaios de glicose. Os valores de controlo devem situar-se dentro dos intervalos estabelecidos para os controlos específicos utilizados. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo.

Valores esperados⁹

70 - 105 mg/dL

Recomenda-se vivamente que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de valores normais.

Desempenho

- Intervalo do ensaio: 0 - 500 mg/dl
- Correlação: Os resultados obtidos com este reagente (y) em 132 amostras, com uma concentração de glicose de 32-297 mg/dL, foram comparados com os obtidos nas mesmas amostras utilizando um reagente em pó seco (x) com base na mesma metodologia num analisador automatizado. O coeficiente de correlação foi de 0,999 e a equação de regressão foi de $y = 1,02x - 1,13$. ($Sy-x = 15,43$)
- Precisão: Foram realizados estudos de precisão num analisador automatizado na sequência de uma modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.¹⁰

Na mesma determinação			Entre dias		
Média	D.P.	% C.V.	Média	D.P.	% 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

- Sensibilidade: A sensibilidade do reagente de Glicose (Oxidase) foi investigada através da leitura das alterações na absorvância a 500 nm para uma amostra de solução salina e um soro com concentração conhecida. Foram realizadas dez réplicas de cada amostra. Os resultados desta investigação indicaram que, no analisador utilizado, o reagente de Glicose (Oxidase) exibiu pouco ou nenhum desvio de reagente numa amostra zero. Nas condições de reação descritas, 1 mg/dL de glicose resulta numa absorvância de 0,002.

Bibliografia

- Keston, A.S., Abstr., 129th Meeting Amer. Chem. Soc., p 31 (1956).
- Teller, J.D., Abstr., 130th 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", 2nd 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", 3rd 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", 2nd Ed. (1992).

Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica
Marcação CE	Representante autorizado na Comunidade Europeia

G7521 Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated
5449 Research Drive Canton, MI 48188 2°C - 8°C

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeu Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BÉLGICA

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

Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.