

Uso previsto

Para la determinación cuantitativa de glucosa en suero. Sólo para diagnóstico *in vitro*. Rx Only

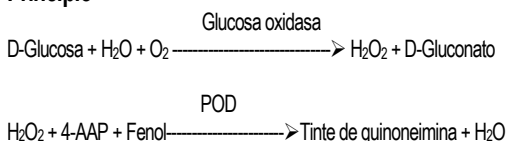
Importancia clínica

La determinación de glucosa en suero se realiza con más frecuencia para el diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus.

Resumen de la prueba

Los primeros métodos enzimáticos para la determinación de glucosa usaban glucosa oxidasa para catalizar la oxidación de la glucosa a peróxido de hidrógeno y ácido gluconico.¹ El peróxido de hidrógeno que se forma se mide por la oxidación de un cromógeno.² Se investigaron muchos cromógenos, pero muchos se descartaron debido a posible carcinogenicidad, toxicidad, inestabilidad o porque resultaban afectados por muchas sustancias interferentes. Trinder³ modificó a Emerson⁴ para desarrollar un sistema eficiente de peroxidasa-fenol-aminofenazona para la cuantificación de peróxido de hidrógeno mediante la formulación de un colorante rojo de quinoneimina. Este método está menos influenciado por sustancias interferentes y no sufre los muchos inconvenientes de los métodos anteriores.

Principio



La glucosa es oxidada por la glucosa oxidasa a gluconato y peróxido de hidrógeno. El Fenol + 4-AAP + peróxido de hidrógeno, en presencia de peroxidasa, produce un tinte de quinoneimina que se mide a 500 nm. La absorbancia a 500 nm es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

Composición del reactivo

Glucosa oxidasa (microbiana) 12000 u/L, peroxidasa (rábano rusticano) > 1000 u/L, 4-AAP >0,3 mM, fenol 4 mM, tampón, pH 7,4 ± 0,1, estabilizadores no reactivos, conservante. Véase "Precauciones".

Preparación de los reactivos

El reactivo se suministra listo para usar.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

1. El reactivo debe almacenarse refrigerado a una temperatura de 2-8°C.
2. El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada cuando se almacena según las instrucciones.

Precauciones

1. El reactivo está indicado exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
2. El reactivo no debe usarse si ha desarrollado turbidez u otra evidencia de crecimiento microbiano.
3. El reactivo no debe usarse si no cumple con las afirmaciones de linealidad o si no recupera los valores de control en el rango establecido.
4. Todas las muestras y controles deben manipularse como potencialmente infecciosos, utilizando procedimientos de laboratorio seguros. (NCCLS M29-T2).⁵

Extracción y almacenamiento de muestras

1. Se recomienda suero no hemolizado o plasma heparinizado
2. El suero debe separarse del coágulo inmediatamente, ya que la tasa de disminución de la glucosa es de, aproximadamente, un 7% por hora en la sangre total.⁶
3. La glucosa en suero es estable durante 24 horas cuando se almacena refrigerada (2-8°C).

4. Las muestras deben extraerse de conformidad con el documento NCCLS H4-A3.⁷

Interferencias

1. Las muestras muy lipémicas pueden dar falsos valores elevados de glucosa.
2. Se ha determinado que la bilirrubina a un nivel de 20 mg/dL y la hemoglobina a un nivel de 500 mg/dL presentan una interferencia no significativa (<3%) en este ensayo. NOTA: El nivel de glucosa fue de 184 mg/dL para el estudio de bilirrubina y de 188 mg/dL para el estudio de hemoglobina.
3. Young, et al⁸ publicaron una lista completa de sustancias que interfieren.

Materiales suministrados

Reactivo de glucosa.

Materiales necesarios, pero no suministrados

1. Dispositivos de pipeteo precisos (1,0 mL y 10 uL)
2. Tubos de ensayo
3. Temporizador (Para medir diez minutos)
4. Espectrofotómetro capaz de leer a 500 nm
5. Bloque calefactor (37°C)
6. Controles de suero con valores de glucosa normales y anormales conocidos

Procedimiento (Automatizado-General)

Longitud de onda:	500 nm
Tipo ensayo:	Punto final
Ratio muestra/reactivo:	1:101
Dirección de reacción:	Incremento
Temperatura:	37°C
Tiempo de incubación:	600 segundos
Bajo Normal:	70 mg/dL
Alto Normal:	105 mg/dL

Procedimiento (manual)

1. Etiquete los tubos de ensayo con las etiquetas "blanco", "control", "estándar", "paciente", etc.
2. Pipeteo 1,0 mL de reactivo de trabajo en todos los tubos y colóquelos en un baño de calor a 37°C durante, al menos, cinco minutos.
3. Añada 0,01 mL (10 uL) de muestra a los tubos respectivos. Mezcle e incube a 37°C durante diez minutos.
4. Después de la incubación, ponga a cero el espectrofotómetro con el blanco del reactivo. Lea y registre las absorbancias de todos los tubos a 500 nm (500-520 nm).
5. Para determinar los resultados, véase la sección "Cálculos".

Limitaciones

1. El reactivo da resultados lineales en el rango de 0-500 mg/dL. Las muestras que superen los 500 mg/dL deben diluirse con un volumen igual de solución salina y volver a analizar. Multiplique el resultado por dos.
2. Si el espectrofotómetro que se utiliza requiere un volumen final superior a 1,0 mL para una lectura precisa, utilice 0,03 mL (30 uL) de muestra por 3,0 mL de reactivo. Realice la prueba como se describe anteriormente.
3. La muestra lipémica puede dar falsos resultados elevados. Para corregir la lipemia, se debe realizar un blanco de suero. Blanco de suero: Añada 0,01 mL (10 uL) de muestra a 1,0 mL de agua. Espectrofotómetro cero con agua. Lea y registre la absorbancia y reste la lectura de la absorbancia de prueba. Calcule de la forma habitual.

Calibración

Utilice un estándar de glucosa identificable en NIST (100 mg/dL) o un calibrador de suero. El procedimiento debe calibrarse de conformidad con las instrucciones de calibración del fabricante del instrumento. Si los resultados del control están fuera de rango, se debe volver a calibrar el procedimiento.

Coni Glucosa (Oxidasa) Pointe

Cálculos

Abs. = Absorbancia

$$\frac{\text{Abs. (Paciente)}}{\text{Abs. (Estándar)}} \times \text{Concentración de Estándar} = \text{Glucosa (mg/dL)}$$

Ejemplo:

Abs. (Paciente) = 0,300

Abs. (Estándar) = 0,200

Concentración de Std. = 100 mg/dL

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

Unidades SI

Para obtener resultados en unidades SI (mmol/L), multiplique los resultados en mg/dL por diez para convertir dL a litros y divida el valor por 180, el peso molecular de la glucosa.

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

Ejemplo: 150mg/dL x 0,0556 = 8,34 mmol/L

Control de calidad

Los controles de suero con valores de glucosa normales y anormales conocidos deben realizarse de forma rutinaria para controlar la validez de la reacción. Estos controles deben realizarse, al menos, con cada turno de trabajo en el que se realicen análisis de glucosa. Los valores de control deben estar dentro de los rangos establecidos para los controles particulares que están en uso. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia frecuencia de determinación de control.

Valores esperados⁹

70 - 105 mg/dL

Se recomienda encarecidamente que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

Rendimiento

- Rango del ensayo: 0 - 500 mg/dL
- Correlación: Los resultados obtenidos con este reactivo (y) en 132 muestras, con concentraciones de glucosa entre 32 y 297 mg/dL, se compararon con los obtenidos en las mismas muestras, utilizando un reactivo de polvo seco (x) basado en la misma metodología en un analizador automatizado. El coeficiente de correlación fue 0,999 y la ecuación de regresión fue $y=1,02x-1,13$. ($Sy-x=15,43$)
- Precisión: Los estudios de precisión se realizaron en un analizador automatizado, siguiendo una modificación de las pautas contenidas en el documento NCCLS EP5-T2.¹⁰

Media	Intraserial		Media	Día a día	
	D.S.	% C.V.		D.S.	% 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

- Sensibilidad: La sensibilidad del reactivo de glucosa (oxidasa) se investigó, leyendo el cambio de absorbancia a 500 nm para una muestra de solución salina y un suero con una concentración conocida. Se realizaron diez réplicas de cada muestra. Los resultados de esta investigación indicaron que, en el analizador utilizado, el reactivo de glucosa (oxidasa) mostró poca o ninguna desviación del reactivo en una muestra cero. En las condiciones de reacción descritas, 1 mg/dL de glucosa da una absorbancia de 0,002.

Referencias

- 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. 06:24 (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).

Clave de símbolo

Usar antes de (AAAA-MM-DD)	Lote y código de lote
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limitación de temperatura
Consultar instrucciones de uso	Rx Only: Venta exclusiva con receta médica
Marca CE	Representante autorizado en la Comunidad Europea

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 Europeo Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (+32)2.732.59.54 Fax: (+32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Certificado para emplear reactivos

Los reactivos Pointe están certificados para ser fabricados de acuerdo con los parámetros especificados. Cualquier producto de reactivo Pointe que no cumpla con las especificaciones hasta la fecha de vencimiento indicada se reparará de inmediato sin cargo.

Rev. 06/23 P803-G7521-01-ES