

Finalidad . Sistema enzimático para la determinación de la glucosa en la sangre, liquor y líquidos ascítico, pleural y sinovial por método cinético o de punto final.

[Solamente para uso diagnóstico in vitro.]

Principio . La glucosa oxidasa cataliza la oxidación de la glucosa de conformidad a la reacción expuesta a continuación:



El peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminoantipirina y fenol, bajo acción catalizadora de la peroxidasa, a través de una reacción oxidativa de acoplamiento, formando una antipirilquinonimina roja cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de la glucosa en la muestra.



Características del sistema . El reactivo se presenta listo para uso utilizando metodología enzimática de gran especificidad analítica, de sencilla y fácil aplicación en el laboratorio clínico.

El Labtest desarrolló el sistema GLUCOSA Liquiform optimizando las concentraciones de enzimas del reactivo al efecto de ofrecer el mejor desempeño analítico y mayor estabilidad.

Los datos de repetitividad y reproducibilidad obtenidos con el sistema GLUCOSA Liquiform demuestran que el método es capaz de ofrecer resultados que sobrepasan las metas de desempeño para las medidas de la glucosa establecidas por la American Diabetes Association (ADA). La comparación entre las imprecisiones encontradas en la repetitividad y en la reproducibilidad demuestra que el sistema de medición es bastante robusto en las regiones de concentraciones significativas para uso clínico, indicando que tiene un desempeño muy estable en el día a día.

El sistema permite que la determinación se realice en modo cinético de tiempo fijo, obteniéndose resultados en tan solo 90 segundos de reacción y también en modo de punto final, que ofrece más agilidad a algunos analizadores bioquímicos.

El método es utilizado en técnica manual y es fácilmente aplicable en analizadores semiautomáticos y automáticos capaces de medir con exactitud la absorbancia entre 490 y 520 nm.

Metodología . GOD-Trinder.

Reactivos

1. [RT] - Reactivo 1 - Conservar entre 2 - 8 °C.

Contiene tampón fosfato 30 mmol/L, pH 7,5; fenol ≥ 1 mmol/L; glucosa oxidasa ≥ 12500 U/L; peroxidasa ≥ 800 U/L; 4-aminoantipirina ≥ 290 μ mol/L; azida sódica 7,5 mmol/L; y surfactantes.

2. [CAL] - Estándar - Conservar entre 2 - 30 °C.

Contiene glucosa 100 mg/dL y biocida no tóxico. Después del manejo, se sugiere almacenar bien tapado para evitar evaporación.

El estabilizador del estándar puede precipitarse a bajas temperaturas, lo que no interfiere en su desempeño.

Los reactivos no abiertos, conservados en las condiciones especificadas, son estables hasta la fecha de expiración impresa en su rótulo. Durante el manipuleo, los reactivos están sujetos a contaminaciones de naturaleza química y microbiana que pueden provocar disminución de la estabilidad.

Precauciones y cuidados especiales

Se deben aplicar cuidados habituales de seguridad en el manejo del reactivo.

El reactivo contiene azida sódica, que es tóxica. Se debe tomar cuidado para evitar la ingestión y en caso de contacto con los ojos lavar inmediatamente con gran cantidad de agua y procurar auxilio médico. La azida puede formar compuestos altamente explosivos con tuberías de plomo y cobre. Por ello, utilizar grandes volúmenes de agua para deshacerse los reactivos.

No utilizar el Reactivo 1 cuando su absorbancia medida contra agua en 505 nm sea igual o mayor que 0,300 o cuando se muestre turbio o con señales de contaminación.

Materiales necesarios y no suministrados

1. Baño maría mantenido a temperatura constante (37 °C).
2. Fotómetro capaz de medir con exactitud la absorbancia entre 490 y 520 nm.
3. Pipetas para medir muestras y reactivo.
4. Cronómetro.

Influencias preanalíticas . Por ser una sustancia con característica reductora el ácido ascórbico previene la formación del cromógeno llevando a resultados falsamente disminuidos. Los pacientes que utilizan el ácido ascórbico (Cebion ®, Energil C ®, Redoxon ®, entre otros) deben ser aconsejados para dejar de usarlo 24 horas antes del examen⁹.

En las 24 horas que suceden a la ingestión aguda de alcohol, ocurre significativa reducción de la glicemia. Las reducciones pueden también ser significativas en los individuos sometidos a ayunas prolongadas o en obesos tratados con dietas de bajo valor calórico³.

Pacientes diabéticos en uso continuado de clorpropamida pueden desarrollar hipoglicemias importantes que son muy difíciles de corregir.

La variación biológica intra-individual de la glucosa es 5,7% y la variación biológica intra-grupo es 6,9%⁴.

Muestra

Se debe crear Procedimiento Operacional Estándar (POE) que establezca procedimientos adecuados para recogida, preparación y almacenamiento de la muestra. Subrayamos que los errores debidos a la muestra pueden ser mucho más grandes que los errores acaecidos durante el procedimiento analítico.

La muestra de sangre debe ser obtenida después de ayunos de como mínimo 8 horas o en menor tiempo si hay recomendación médica.

Usar plasma o suero tomando las precauciones expuestas a continuación:

Realizar la recogida de la sangre utilizando un anticoagulante que contiene un inhibidor de la glucólisis. El uso del anticoagulante Glistab - Labtest (Ref.: 29) permite la recogida de una sola muestra para las dosificaciones de creatinina, glucosa y urea.

Las muestras de sangre que no contengan antiglucofítico se deben centrifugar inmediatamente después de la recogida y el plasma o suero se deben separar de las células o coágulo.

En otros líquidos biológicos (líquor y líquidos ascítico, pleural y sinovial) añadir anticoagulante conteniendo antiglucofítico en la misma proporción usada para la muestra de sangre y centrifugar antes de la dosificación⁶.

En las muestras de sangre tratadas con antiglucofítico la concentración de la glucosa permanece estable hasta 8 horas. En el plasma, suero y otros líquidos separados de las células, la glucosa permanece estable por 3 días entre 2 - 8 °C, cuando no ocurra contaminación microbiana⁶.

Como ningún test conocido puede asegurar que muestras de sangre no transmiten infecciones, todas deben ser consideradas como potencialmente infectantes. Por lo cual, al manejarlas, se deben seguir las normativas establecidas para bioseguridad.

Para deshacerse de los reactivos y del material biológico sugerimos aplicar las normativas locales, regionales o nacionales de protección ambiental.

Interferencias

Método de punto final . Concentraciones de bilirrubina de hasta 2,5 mg/dL, hemoglobina hasta 200 mg/dL no producen interferencias significativas. Concentraciones de bilirrubina mayores que 2,5 mg/dL producen interferencia negativa.

Concentraciones de triglicéridos hasta 1000 mg/dL no producen interferencia significativa cuando se utiliza blanco de la muestra.

Para evaluar la concentración aproximada de la hemoglobina en una muestra hemolisada se puede proceder como expuesto a continuación: diluir 0,05 mL de la muestra en 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) y medir la absorbancia en 405 ó 415 nm, ajustando el cero con agua desionizada o destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbancia}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbancia}_{415} \times 467$$

Blanco de la muestra . Este procedimiento es aplicable cuando ocurre acción positiva de interferentes. Mezclar 1,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) con 0,01 mL de la muestra. Medir la absorbancia en 505 nm, ajustando el cero con agua destilada o desionizada. Restar la absorbancia así obtenida de la absorbancia del test y calcular la concentración.

Método cinético . Concentraciones de bilirrubina de hasta 2,5 mg/dL, hemoglobina hasta 200 mg/dL y triglicéridos hasta 1000 mg/dL no producen interferencias significativas.

Procedimiento

Método de punto final

Tomar 3 tubos de ensayo y proceder como expuesto a continuación:

	Blanco	Test	Estándar
Muestra	----	0,01 mL	----
Estándar	----	----	0,01 mL
Reactivo 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Mezclar vigorosamente y incubar en baño maría a 37 °C durante 10 minutos. El nivel del agua en el baño debe ser superior al nivel de los reactivos en los tubos de ensayo. Determinar las absorbancias del test y estándar en 505 nm, ajustando el cero con el blanco. El color es estable por 30 minutos.

El procedimiento sugerido para la medición es adecuado para fotómetros cuyo volumen mínimo de solución para lectura es igual o menor que 1,0 mL. Se debe hacer una verificación de la necesidad de ajuste del volumen para el fotómetro utilizado.

Los volúmenes de muestra y reactivo pueden ser modificados proporcionalmente sin perjuicio para el desempeño del test y el procedimiento de cálculo se mantiene inalterado. En caso de reducción de los volúmenes, es fundamental que se observe el volumen mínimo necesario para la lectura fotométrica.

Volúmenes de la muestra menores que 0,01 mL son críticos en aplicaciones manuales y deben ser usados con cautela porque aumentan la imprecisión de la medición.

Cálculos . Ver linealidad.

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbancia del Test}}{\text{Absorbancia del Estándar}} \times 100$$

Ejemplo

Absorbancia del Test = 0,362
Absorbancia del Estándar = 0,340

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = \frac{0,362}{0,340} \times 100 = 106$$

Debido a la gran reproducibilidad que se puede obtener con la metodología, se puede emplear el método del factor.

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{100}{\text{Absorbancia del Estándar}}$$

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = \text{Absorbancia del Test} \times \text{Factor}$$

Ejemplo

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{100}{0,340} = 294$$

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = 0,362 \times 294 = 106$$

Método cinético . Debe ser usado en todas muestras lipémicas.

El procedimiento utiliza una cinética de 2 puntos y no requiere el blanco de la reacción. El control de la temperatura es absolutamente indispensable para la reproducibilidad de los resultados. También es de fundamental importancia que las operaciones con muestras y patrones sean realizadas manteniéndose rigurosamente constante el intervalo entre la mezcla de la muestra o estándar con el reactivo y el comienzo de la medición en el fotómetro. Como el tiempo de reacción es muy pequeño, es necesario utilizar un fotómetro que tenga control de temperatura a 37 °C en la cubeta.

Ajustar el cero del fotómetro en 505 nm con agua destilada o desionizada. Añadir 0,01 mL de la muestra o Estándar a 1,0 mL del Reactivo 1 previamente calentado a 37 °C. Mezclar y comenzar inmediatamente la medida fotométrica. Realizar una medición de la absorbancia a los 30 segundos y otra medición en 90 segundos, manteniendo la reacción con temperatura controlada en 37 °C.

Cálculos

$$\Delta A (\text{Test o Estándar}) = \text{Absorbancia}_{90} - \text{Absorbancia}_{30}$$

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ del Test}}{\Delta A \text{ del Estándar}} \times 100$$

Ejemplo

$$A_{30} \text{ Test} = 0,104$$

$$A_{90} \text{ Test} = 0,181$$

$$A_{30} \text{ Estándar} = 0,095$$

$$A_{90} \text{ Estándar} = 0,178$$

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = \frac{0,181 - 0,104}{0,178 - 0,095} \times 100 = 93$$

Calibración . El Estándar es trazable al Standard Reference Material (SRM) 917 del National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibraciones Manuales

Obtener el factor de calibración al usar nuevo lote de reactivos o cuando el control interno de calidad indicar.

Sistemas Automáticos

Blanco de reactivos: agua destilada o desionizada, o solución del NaCl 150 mmol/L (0,85%).

Estándar: usar calibradores proteicos. Las concentraciones de la glucosa en los calibradores de la línea Calibra son trazables al SRM 917 del NIST.

Intervalo de las calibraciones

Calibración del blanco al usar nuevos frascos de reactivos;

Calibración de 2 puntos al cambiar el lote;

Calibración de 2 puntos cuando el control interno de la calidad indicar.

Linealidad

El resultado de la medición es lineal hasta 500 mg/dL. Cuando se obtenga un valor igual o mayor que 500 mg/dL, diluir la muestra con NaCl 150 mmol/L, realizar nueva medición y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución. Sugerimos la verificación de la linealidad metodológica y fotométrica como mínimo a cada seis meses, utilizando muestra con valores de hasta 500 mg/dL.

Control interno de la calidad . El laboratorio debe mantener un programa de control interno de calidad que defina con claridad los reglamentos aplicables, objetivos, procedimientos, criterios para especificaciones de la calidad y límites de tolerancia, acciones correctivas y registro de las actividades. Controles deben ser utilizados para evaluar la imprecisión e desviaciones de calibración. Se sugiere que las especificaciones para el coeficiente de variación máximo y el error total sean basados en los componentes de la variación biológica (VB).

Se sugiere utilizar los productos de la línea Qualitrol - Labtest para el control interno de la calidad en ensayos de química clínica.

Intervalo de referencia . Los intervalos deben ser usados sólo como orientación. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores de referencia en la población atendida.

Plasma (ayuno de 8 horas)

Edad	mg/dL
Prematuro	20 a 60
0 a 1 día	40 a 60
> 1 día	50 a 80
Niños e Adultos	65 a 99

Los criterios para diagnóstico de pre diabetes y diabetes pueden ser obtenidos en: American Diabetes Association. Diabetes Care 2006; (supl 29): S43-S48.

Líquor . 2/3 de la glicemia cuando la medición es realizada en muestras cosechadas simultáneamente.

En individuos sanos, la pequeña cantidad de líquido presente en las cavidades articular, pleural y peritoneal és originada de ultrafiltrado del plasma. Por lo tanto, se puede considerar que en la práctica la glicose allí presente está en la misma concentración del plasma.

Conversión . Unidades Convencionales (mg/dL) x 0,0556 = Unidades SI (mmol/L)

Características del desempeño¹²

Exactitud . En dos muestras con concentraciones de glucosa iguales a 78 y 150 mg/dL se añadieron cantidades diferentes del analito, obteniéndose en el método de punto final recuperaciones entre el 98 y 99%. El error sistemático proporcional medio obtenido en un valor de 120 mg/dL fue igual a 1,8 mg/dL o 1,5%.

Especificidad . El método propuesto fue comparado con un método similar utilizando 40 muestras con valores situados entre 44 y 606 mg/dL medidas en duplicada. La comparación resultó en la ecuación de regresión $y = 0,9637x + 2,8$ y un coeficiente de correlación (r) igual a 0,999. El error sistemático total (constante y proporcional) verificado en el nivel de decisión (120 mg/dL) es igual a 1,58 mg/dL o 1,32%. El error total en el mismo nivel de decisión es 4,32%. Como las muestras fueron seleccionadas aleatoriamente en pacientes de ambulatorio y hospitalizados, se puede inferir que el método tiene una especificidad metodológica adecuada y cumple con los requisitos especificados por la American Diabetes Association (ADA)⁵.

Repetitividad - imprecisión intra-ensayo

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	80	47	0,60	1,25
Muestra 2	80	129	1,86	1,08
Muestra 3	80	194	2,81	0,62

Reproducibilidad - imprecisión total

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	80	47	1,04	2,19
Muestra 2	80	129	1,47	1,82
Muestra 3	80	194	1,88	1,66

Sensibilidad metodológica . Una muestra proteica conteniendo 44 mg/dL de glucosa fue utilizada para calcular el límite de detección del ensayo, encontrándose un valor igual a 1,77 mg/dL, equivalente a 3 veces el desvío estándar de las replicatas de la muestras. Usando la absorbancia del estándar como parámetro, el límite de detección fotométrica es de 0,28 mg/dL que corresponde a una absorbancia igual a 0,001.

Efectos de la dilución de la matriz . Dos muestras con valores iguales a 634 y 625 mg/dL fueron utilizadas para evaluar la respuesta del sistema en las diluciones de la matriz con NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando factores de dilución que variaron de 2 a 8 se encontraron recuperaciones de entre un 95 y 99%.

Significado clínico . Valores elevados de glucosa se dan en varios tipos de diabetes primarias, en los estados de intolerancia a la glucosa y en las diabetes secundarias en varias dolencias (hipertiroidismo, hiperpituitarismo, hiperadrenocorticismos, etc).

Valores disminuidos se dan en las hipoglucemias que se pueden deber a varias causas. Cuando la ocurrencia de hipoglucemia está relacionada a la alimentación, se pueden definir dos tipos de hipoglucemias: la del ayuno y la posprandial.

Las causas más comunes de hipoglucemia del ayuno son: hiperinsulinismo endógeno (insulinoma y sulfonilurea), hiperinsulinismo exógeno (fáctico), tumores extrapancreáticos, síndrome auto inmune (formación espontánea de anticuerpos para receptores de la insulina), insuficiencia suprarrenal y o hipofisaria, dolencia hepática grave y alcoholismo.

La hipoglucemia posprandial, dependiendo de la historia clínica y de la respuesta al test oral de tolerancia a la glucosa, se clasifica en alimentaria, hipoglucemia del diabético tipo II y del paciente con intolerancia a la glucosa, hipoglucemia funcional o reactiva.

Para una revisión de los criterios diagnósticos y clasificación de la diabetes mellitus, consultar American Diabetes Association. Diabetes Care 2012;(suppl): 1 S64-S71 ou: http://care.diabetesjournals.org/content/35/Supplement_1/S64.full (acceso em 16/04/2012).

La reducción de la concentración de glucosa en los líquidos corporales se encuentra relacionada usualmente a los procesos inflamatorios o infecciosos.

La determinación de la concentración de glucosa en el LCR es uno de los parámetros que permite diferenciar entre meningitis bacteriana y vírica, teniendo, sin embargo, sensibilidad inferior a la evaluación celular en el mismo material.

Observaciones

1. La limpieza y secado adecuado del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

2. El laboratorio clínico tiene como objetivo fornecer resultados exactos y precisos. La utilización de agua de calidad inadecuada es una causa potencial de errores analíticos. El agua desionizada o destilada utilizada en el laboratorio debe tener la calidad adecuada para cada aplicación. Así, para preparar reactivos y usar en las mediciones y para su uso en enjuague final de la vidriería, el agua debe tener resistividad ≥ 1 megaohm.cm o conductividad ≤ 1 microsiemens/cm y concentración de silicatos $< 0,1$ mg/L.

Cuando la columna desionizadora está con su capacidad saturada, se produce agua con liberación de varios iones, silicatos y sustancias con gran poder de oxidación o reducción que deterioran los reactivos en pocos días o incluso horas, alterando los resultados de modo imprevisible. Por lo cual es fundamental establecer un programa de control de la calidad del agua.

3. Varias publicaciones demuestran que la orina contiene numerosas sustancias, especialmente el ácido úrico, que interfieren en los métodos utilizando la reacción de GOD-POD, conllevando a resultados falsamente disminuidos.

Referencias

- Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, 3a. edição, Vol VI, Deerfield Beach:VCH, 1986:178-184.
- Blaedel WJ, Uhl JM. Clin Chem 1975;21:119-124.
- Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, 1a. edição, Washington: AACCPress, 1993.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponible en: <<http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170>> (acceso en 04/2006).
- Sachs DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, Mc Donald JM, Parrot M. Clin Chem 2002; 48:436-72.
- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia: W.B. Saunders, 1970:154-166.
- Tonks DB Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcot Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
- Martinello F, Silva E.L. Interferência do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos: estudos in vivo e in vitro. Journ. Bras. Pat. Med. Lab, 2003;39:323-334.

10. Basques, JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.

11. Burtis CA, Ashwood ER. Textbook of Clinical Chemistry, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders, 1986:2175-2211.

12. Labtest: Dados de Arquivo.

Presentación

Producto	Referencia	Contenido
Glucosa Liquiform	133-1/500	RT 1 x 500 mL
		CAL 1 x 5 mL
	133-2/500	RT 2 x 500 mL
		CAL 1 x 5 mL

Están disponibles las aplicaciones **para sistema automáticos y semi-automáticos**.

El número de ensayos **en aplicaciones en los sistemas automáticos depende de los parámetros de programación**.

Informaciones al consumidor

[Términos y Condiciones de Garantía]

Labtest Diagnóstica garantiza el desempeño de este producto, dentro de las especificaciones, hasta la fecha de expiración indicada en los rótulos, siempre que los cuidados de utilización y almacenamiento indicados en los rótulos y en estas instrucciones, sean seguidos correctamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38
 Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000
 Lagoa Santa . Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Servicio de Apoyo al Consumidor | e-mail: sac@labtest.com.br

Edición: Diciembre, 2011
 Ref.: 240214

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
 Reproducción bajo previa autorización

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control
	Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control
	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control
	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before		

Ref.: 140214 |