

Reactivo de Glucosa

Método del Hexoquinasa

RESUMEN DEL PRODUCTO

| | | |
|--------------------------|---|---|
| Estabilidad | : | 30 días a 2-8°C |
| Intervalo Lineal | : | Hasta 42 mmol/L (756 mg/dL) |
| Tipo de muestra | : | Suero, Plasma y Orina |
| Método | : | Punto fina |
| Preparación del reactivo | : | Añadir un volumen especificado de agua destilada o desionizada. |

IVD

USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para uso diagnóstico in vitro en la determinación cuantitativa de glucosa en el suero, en el plasma o en la orina humana.

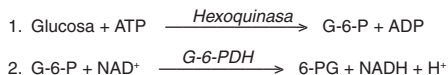
RELEVANCIA CLÍNICA

La estimación exacta de la glucosa resulta importante en el diagnóstico y en la gestión de las hiperglucemias y las hipoglucemias. Puede producirse una hiperglucemia como resultado de la diabetes mellitus, en pacientes que reciban líquidos que contengan glucosa por vía intravenosa, durante los episodios graves de estrés y en los accidentes cerebrovasculares. La hipoglucemia puede ser el resultado de un insulinooma, de la administración de insulina, de errores innatos del metabolismo de los carbohidratos o el ayuno.¹ En la investigación de estos trastornos, se realizan frecuentemente determinaciones de glucosa junto con diversas pruebas de tolerancia o pruebas de estimulación. Para una discusión más detallada del metabolismo de la glucosa el usuario debe consultar un libro de texto estándar tal como el Kaplan.²

METODOLOGÍA³

El método de la hexoquinasa / glucosa-6-fosfato deshidrogenasa desarrollado por la Asociación americana de química clínica y los Centros para el control de las enfermedades se ha aceptado como método de referencia para la determinación de glucosa. En este procedimiento se utilizan filtrados libres de proteínas preparados mediante la técnica Somogyi utilizando precipitación con ZnSO₄ / BaSO₄. Sin embargo, para uso de rutina en laboratorios el método preferido es el suero o el plasma sin eliminación de proteínas. El reactivo de glucosa hexoquinasa está basado en este método de referencia.

Las series de reacciones implicadas en el sistema de ensayo son las siguientes:



1. La Hexoquinasa cataliza la producción de glucosa mediante el ATP; produciendo ADP y glucosa-6-fosfato.
2. La glucosa-6-fosfato se oxida a 6-fosfogluconato con la reducción del NAD⁺ a NADH por acción de G-6-PDH. La cantidad de NADH formado es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra, y se puede medir mediante el aumento de la absorbancia a 340 nm.

Abreviaturas

| | | |
|---------|---|-----------------------------------|
| ATP | = | 5'-trifosfato de adenosina |
| ADP | = | 5'-difosfato de adenosina |
| G-6-PDH | = | Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa |
| G-6-P | = | Glucosa-6-fosfato |
| 6-PG | = | 6-fosfogluconato |
| NAD+ | = | Nicotinamida Adenina Dinucleótido |
| NADH | = | NAD reducido |

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos

| | Concentración |
|-------------------------------------|---------------|
| Trietanolamina | 20 mmol/L |
| ATP | 1,65 mmol/L |
| NAD | 1,06 mmol/L |
| Hexoquinasa (levadura recombinante) | >1500 U/L |
| G-6-PDH (Leuconostoc recombinante) | >1500 U/L |
| pH 7,3 ± 0,1 a 20°C | |

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene Azida de Sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre o de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del Reactivo de Glucosa Hexoquinasa. El envase de este producto contiene caucho natural seco. Tenga precaución al manipular los viales con boca para cápsulas metálicas y los viales de vidrio rotos, dado que los bordes afilados podrían herir al usuario.

| | |
|-----|--|
| R22 | Nocivo por ingestión. |
| S28 | En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con jabón y agua. |

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

| | | | |
|---------------|-----------------------------------|--|--|
| EC REP | Representante autorizado | | Limitación de temperatura |
| IVD | Para uso en diagnósticos in vitro | | Usar hasta/Fecha de caducidad |
| LOT | Código de lote/Número de lote | | PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso. |
| REF | Número de catálogo | | Fabricado por |
| | Consulte las instrucciones de uso | | Xn - Nocivo |

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituya el reactivo con el volumen de agua destilada o desionizada indicado en la etiqueta de la botella.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

Cuando se almacena a 2-8°C, el reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial y de la caja del kit.

Reactivo reconstituido:

Cuando se almacena bien cerrado a 2-8°C, el reactivo es estable durante al menos 30 días.

Indicios del deterioro del reactivo:

- Turbidez;
- Absorbancia del reactivo >0,2 (340 nm, paso de luz de 1 cm); y/o
- Imposibilidad de obtener los valores de control dentro del intervalo asignado.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Recogida: La estabilidad de las muestras de glucosa se reduce por acción de la contaminación bacteriana y de la glucólisis. A fin de inhibir la glucólisis, las muestras se deberían recoger en tubos que contengan fluoruro de sodio. El suero o el plasma se debería separar de las células con la mayor brevedad posible

Suero: Use suero no hemolizado.

Plasma: Utilice heparina.

Orina: En caso de que se prevea un retraso en el transporte hasta el laboratorio, se recomienda el uso de un conservante químico tal como mertiolato (0,23 mmol/L).⁶

Almacenamiento: La glucosa sérica es estable durante 4 horas a 30°C y 24 horas a 4°C. Para un almacenamiento a largo plazo las muestras se deben colocar en envases sellados y congelarse a -10°C.^{4,5} Las muestras de orina son estables durante 1 día a 4°C.⁸

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 340 nm (334-365 nm).
- Agua destilada o desionizada para la preparación de los reactivos y equipos relacionados, por ejemplo: pipetas.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas de muestra.
- Material de control de ensayos normales y anormales.
- Un calibrador o un patrón acuoso de glucosa adecuado.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones para los instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

| | |
|---------------------------------|-----------------------------|
| Temperatura | 30/37°C |
| Longitud de onda primaria | 340 nm (334 - 365nm) |
| Longitud de onda secundaria | 380 nm (380 - 410nm) |
| Tipo de ensayo | Punto final |
| Dirección | Incremento |
| Muestra: Proporción de reactivo | 1:100 - 1:150 |
| p.ej. Vol de muestra | 3 µL |
| Vol de reactivo | 300 µL |
| Tiempo de incubación | 180 segundos |
| Límites del blanco de reactivo | Bajo 0,0 AU |
| (340 nm, paso de luz de 1cm) | Alto 0,2 AU |
| Linealidad | Hasta 42 mmol/L (756 mg/dL) |
| Sensibilidad | 0,017ΔA por mmol/L |
| (340nm, paso de luz de 1cm) | 0,001ΔA por mg/dL |

CÁLCULOS

Los resultados se calculan, en general, de forma automática por el instrumento, como sigue:

$$\text{Glucosa} = \frac{\text{Absorbancia de desconocido}}{\text{Absorbancia del calibrador}} \times \text{Valor del calibrador}$$

Ejemplo:

| | | |
|----------------------------|---|-------------------------|
| Absorbancia del calibrador | = | 0,23 |
| Absorbancia de desconocido | = | 0,10 |
| Valor del calibrador | = | 13,1 mmol/L (236 mg/dL) |

$$\text{Glucosa} = \frac{0,10}{0,23} \times 13,1 = 5,7 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Glucosa} = \frac{0,10}{0,23} \times 236 = 103 \text{ mg/dL}$$

Para las muestras de orina, los resultados se deben multiplicar por el factor de dilución y las tomas de 24 horas por el volumen en litros.

$$\text{Glucosa en la orina} = \text{Resultado de glucosa} \times \text{Dilución} \times \text{Volumen}$$

(mmol/24 horas) (mmol/L) Factor (litros)

Ejemplo:

| | | |
|------------------------------|---|-------------------------|
| Resultado de glucosa | = | 0,7 mmol/L (12,6 mg/dL) |
| Dilución de la orina | = | Pura |
| Volumen de orina en 24 horas | = | 0,95 litros |

$$\text{Glucosa en la orina} = 0,7 \times 1 \times 0,95 = 0,67 \text{ mmol/24 h}$$

$$\text{Glucosa en la orina} = 12,6 \times 1 \times 0,95 = 11,97 \text{ mg/24 h}$$

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para acomodarse a los diferentes requerimientos del espectrómetro.
- La prueba se puede llevar a cabo a 25°C o a 30°C aumentando el tiempo de incubación hasta 10 minutos y 6 minutos respectivamente.
- También se puede analizar a 334 ó 365 nm.
- Las muestras con valores de glucosa mayores de 42 mmol/L (756 mg/dL) se deberían diluir con suero isotónico y volverse a analizar. Multiplique los resultados por el factor de dilución.
- Conversión unità: mmol/L x 18 = mg/dL.

CALIBRACIÓN

Es necesario calibrar. Se recomienda un patrón acuoso o un calibrador basado en suero, con un valor asignado comparable con un patrón primario (p.ej. NIST o IRMM). Para la frecuencia de calibración de los instrumentos automatizados, consulte las especificaciones del fabricante del instrumento.

No obstante, la estabilidad de la calibración depende del funcionamiento óptimo del instrumento y del uso de reactivos que se hayan almacenado según las recomendaciones de la sección de estabilidad y almacenamiento de esta hoja de datos. Se recomienda recalibrar en cualquier momento si ocurre alguno de estos sucesos:-

- El número de lote del reactivo cambia.
- Se realiza un mantenimiento preventivo o se sustituye un componente crítico.
- Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala y un nuevo vial de control no rectifica el problema.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales como muestras desconocidas:-

- Al menos cada ocho horas.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, recalibrar con calibrador fresco, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, realizar una calibración con reactivo recién preparado, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, bilirrubina y lipemia y se obtuvieron los siguientes resultados:

Hemoglobina: Evite el uso de muestras hemolizadas.
Bilirrubina: No se observa interferencia debida a la bilirrubina hasta 340 µmol/L (20 mg/dL).

Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como triglicéridos, hasta 5,6 mmol/L (500 mg/dL).

- Young DS⁷ ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS

| | | |
|---------------------|------------------|----------------|
| Suero: ⁸ | 3,89-5,83 mmol/L | (70-105 mg/dL) |
| Orina: ⁹ | 0,28-0,83 mmol/L | (5-15 mg/dL) |

Para el diagnóstico de la diabetes o de la Tolerancia a la Glucosa (TG) alterada, la O.M.S. recomienda los siguientes criterios:¹⁰

| | Plasma Venoso | Capilar |
|--|---------------------------------|---------------------------------|
| Diabetes | | |
| En ayuno | ≥7,8 mmol/L (≥140 mg/dL) | ≥7,8 mmol/L (≥140 mg/dL) |
| 2 horas después de la carga de glucosa | ≥11,1 mmol/L (≥200 mg/dL) | ≥12,2 mmol/L (≥200 mg/dL) |
| TG alterada | | |
| En ayuno | <7,8 mmol/L (<140 mg/dL) | <7,8 mmol/L (<140 mg/dL) |
| 2 horas después de la carga de glucosa | 7,8-11,1 mmol/L (140-200 mg/dL) | 8,9-12,2 mmol/L (160-220 mg/dL) |

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el Reactivo de Glucosa Hexoquinasa en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer las características de funcionamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T.¹¹

| | NIVEL I | NIVEL II |
|---------------------------|------------|-------------|
| Intraanálisis: | | |
| Número de puntos de datos | 80 | 80 |
| Media (mmol/L / mg/dL) | 5,44 / 98 | 16,11 / 290 |
| SD (mmol/L / mg/dL) | 0,08 / 1,4 | 0,09 / 1,7 |
| CV (%) | 1,4 | 0,6 |
| Total: | | |
| Número de puntos de datos | 80 | 80 |
| Media (mmol/L / mg/dL) | 5,44 / 98 | 16,11 / 290 |
| SD (mmol/L / mg/dL) | 0,17 / 3,0 | 0,43 / 7,8 |
| CV (%) | 3,1 | 2,7 |

EXACTITUD

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando otro reactivo de glucosa hexoquinasa disponible comercialmente como referencia. Se analizaron en paralelo muestras de suero y plasma de pacientes normales y anormales. Los resultados se compararon mediante regresión por mínimos cuadrados y se obtuvieron los siguientes datos estadísticos:

| | |
|---|------------------------------------|
| Número de pares de muestras | 60 |
| Intervalo de los resultados de las muestras | 1,9 - 26,1 mmol/L (34 - 469 mg/dL) |
| Media de los resultados | 5,4 mmol/L (97 mg/dL) |
| Media de los resultados de glucosa | 5,3 mmol/L (96 mg/dL) |
| Pendiente | 0,97 |
| Ordenada en el origen | 0,12 mmol/L (2,18 mg/dL) |
| Coefficiente de correlación | 1,00 |

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 42 mmol/L (756 mg/dL).


SENSIBILIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,017ΔA por mmol/L o 0,001 ΔA por mg/dL (paso de luz 1 cm, 340 nm).

BIBLIOGRAFÍA

- Zilva JF, Pannall PR. Carbohydrate Metabolism in "Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment". Lloyd-Luke London 1979, Chap 9: 174-214.
- Kaplan LA, Pesce AJ (Ed) "Clinical Chemistry Theory, Analysis and Correlation". CV Mosby Company 1984.
- Farrance I. Clin Biochem Reviews 1987; 8: 55-68.
- Trinder P. Ann Clin Biochem. 1969; 6: 24.
- Pencock CA, et al. Clin Chem Acta 1973; 49: 193.
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4: 61-7.
- Young DS, et al. Clin Chem 1975; 5: 1D-432D.
- Caraway WT in 'Fundamentals of Clinical Chemistry' NM Tietz (Ed) W.B. Saunders, Philadelphia 1976; Chap 6: 242.
- Richterich R, Colombo JP. Klinische Chemie 4 Ed Basel: Karger 1978: 531.
- Farrance I, Garcia-Webb P. Clin Biochem Reviews 1987: 8: 48-50.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices NCCLS 1984; NCCLS publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Información de Pedidos

| No de Catalogue | Configuración |
|------------------|---------------|
| 1520-200A | 20 x 10 mL |
| TR15015 | 20 x 20 mL |
| TR15003/1520-500 | 10 x 50 mL |
| TR15004 | 10 x 200 mL |