

Reagente Glucosio

Metodo Esochinasi

SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	30 giorni a 2-8°C
Intervallo lineare	:	Fino a 42 mmol/L (756 mg/dL)
Tipo di campione	:	Siero, Plasma e Urina
Metodo	:	Punto finale
Preparazione reagente	:	Aggiunta del volume di acqua distillata o deionizzata specificato.

IVD

USO PREVISTO

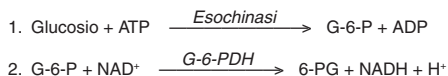
Questo reagente è per uso diagnostico in vitro per la determinazione quantitativa di glucosio nel siero umano, plasma o urina umano.

IMPORTANZA CLINICA

La valutazione accurata del glucosio è importante per la diagnosi e la gestione di iperglicemia e ipoglicemia. L'iperglicemia può verificarsi come conseguenza del diabete mellito, nei pazienti a cui vengano somministrati per via endovenosa liquidi contenenti glucosio, in caso di gravi stress e di incidenti cerebrovascolari. L'ipoglicemia può essere la conseguenza di un'insulinoma, della somministrazione di insulina, di errori congeniti del metabolismo o di un digiuno.¹ Spesso, nell'analisi di questi disturbi, le determinazioni del glucosio sono effettuate congiuntamente a vari test di tolleranza o di stimolazione. Per una discussione più dettagliata sul metabolismo del glucosio, fare riferimento a un libro di testo standard, come ad esempio il Kaplan.²

METODOLOGIA³

Il metodo dell'esochinasi / glucosio-6-fosfato deidrogenasi sviluppato dall'Associazione americana di chimica clinica e centri per il controllo delle malattie è stato riconosciuto come metodo di riferimento per la determinazione del glucosio. In questa procedura vengono utilizzati filtri privi di proteine preparati con la tecnica Somogyi utilizzando la precipitazione ZnSO₄ / BaSO₄. Tuttavia, per l'uso nelle routine di laboratorio, il metodo preferito impiega siero o plasma senza rimozione delle proteine. Il reagente esochinasi al glucosio si basa su questo metodo di riferimento. La serie di reazioni interessata dal sistema di analisi è la seguente:



- L'esochinasi catalizza la fosforilazione del glucosio da parte dell'ATP producendo ADP e glucosio-6-fosfato.
- Il glucosio-6-fosfato viene ossidato in 6-fosfogluconato con la riduzione di NAD⁺ in NADH da parte di G-6-PDH. La quantità di NADH formata è proporzionale alla concentrazione di glucosio nel campione e può essere misurata mediante l'aumento dell'assorbanza a 340 nm.

Abbreviazioni

ATP	=	Adenosina-5'-trifosfato
ADP	=	Adenosina-5'-difosfato
G-6-PDH	=	Glucosio-6-fosfato deidrogenasi
G-6-P	=	Glucosio-6-fosfato
6-PG	=	6-fosfogluconato
NAD ⁺	=	Nicotinamide Adenina Dinucleotide
NADH	=	NAD ridotta

COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

Ingredienti attivi	Concentrazione
Trietanolammina	20 mmol/L
ATP	1,65 mmol/L
NAD	1,06 mmol/L
Esochinasi (lievito ricombinante)	>1500 U/L
G-6-PDH (Leuconostoc ricombinante)	>1500 U/L
pH 7,3 ± 0,1 a 20°C	

AVVERTENZA: Non ingerire. Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. In caso di versamento, lavare l'area interessata con abbondante acqua. Il reagente contiene sodio azeide che a contatto con impianti idraulici in rame o piombo può causare reazioni. Smaltire con abbondante acqua. Per maggiori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del Reagente Esochinasi al Glucosio. La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale solida. Fare attenzione nel manipolare linguette metalliche e fiale di vetro rotte in quanto i bordi affilati possono ferire l'utente.

R22 Nocivo per ingestione.
S28 In caso di contatto con la pelle lavarsi immediatamente ed abbondantemente con sapone ed acqua.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Ricostituire il reagente con il volume d'acqua distillata o deionizzata indicato sull'etichetta della fiala.

SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
	Numero catalogo		Prodotto da
	Consultare le istruzioni d'uso		Xn - Nocivo

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Prima dell'uso:

Se conservato a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile fino alla data di scadenza indicata sul flacone e sull'etichetta del contenitore del kit.

Reagente ricostituito:

Se conservato chiuso a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile per almeno 30 giorni.

Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità;
- Assorbanza del reagente >0,2 (340nm, 1 cm percorso della luce); e/o
- Mancato ripristino dei valori di controllo nell'intervallo assegnato.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI

Raccolta: La stabilità dei campioni di glucosio è ridotta dalla contaminazione batterica e dalla glicolisi. Per inibire la glicolisi, i campioni devono essere raccolti in tubi contenenti fluoruro di sodio. Il siero o il plasma devono essere separati dalle cellule prima possibile.

Siero: Utilizzare siero non emolizzato.

Plasma: Utilizzare eparina.

Urina: Se si prevede un ritardo nel trasporto al laboratorio, utilizzare un conservante chimico, come ad esempio Mertiolato (0,23 mmol/L).⁶

Conservazione: Il glucosio nel siero è stabile per 4 ore a 30°C e per 24 ore a 4°C. Per la conservazione a lungo termine, i campioni devono essere posti in contenitori sigillati e congelati a -10°C.^{4,5} I campioni di urine sono stabili per 1 giorno a 4°C.⁸

STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbanza a 340 nm (334-365 nm).
- Acqua distillata o deionizzata per la preparazione del reagente e relativa strumentazione, ad es.: pipette.
- Materiali di consumo specifici per l'analizzatore, ad es.: contenitore campioni.
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale
- Calibratore o uno standard acquoso per il glucosio appropriato.

PROCEDURA DI ANALISI

Si consiglia di attenersi ai seguenti parametri di sistema. Singole applicazioni strumentali sono fornite su richiesta dal Gruppo di assistenza tecnica.

PARAMETRI DI SISTEMA

Temperatura	30/37°C
Lunghezza d'onda primaria	340 nm (334 - 365nm)
Lunghezza d'onda secondaria	380 nm (380 - 410nm)
Tipo di analisi	Punto finale
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1:100 - 1:150
ad es.: Vol. campione	3 µL
Vol. reagente	300 µL
Tempo di incubazione	180 secondi
Limiti Blank del reagente	Basso 0,0 AU
(340nm, 1cm percorso luce)	Alto 0,2 AU
Linearità	Fino a 42 mmol/L (756 mg/dL)
Sensibilità	0,017 ΔA per mmol/L
(340nm, percorso luce 1cm)	0,001 ΔA per mg/dL

CALCOLO

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

$$\text{Glucosio} = \frac{\text{Assorbanza di sconosciuto}}{\text{Assorbanza del calibratore}} \times \text{Valore calibratore}$$

Esempio:

Assorbanza del calibratore	=	0,23
Assorbanza di sconosciuta	=	0,10
Valore del calibratore	=	13,1 mmol/L (236 mg/dL)

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

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

Per i campioni di urina, i risultati devono essere moltiplicati per il fattore di diluizione e 24 ore di raccolta per il volume in litri.

$$\text{Glucosio nelle urine} = \frac{\text{Risultato glucosio}}{\text{(mmol/24 ore)}} \times \frac{\text{Diluizione}}{\text{(mmol/L)}} \times \frac{\text{Volume}}{\text{(litri)}}$$

Esempio:

Risultato del glucosio = 0,7 mmol/L (12,6 mg/dL)
 Diluizione dell'urina = Chiara
 24 ore Volume di urina = 0,95 litri

Glucosio nell'urina = 0,7 x 1 x 0,95 = 0,67 mmol/24 ore
 Glucosio nell'urina = 12,6 x 1 x 0,95 = 11,97 mg/24 ore

NOTE

- I volumi di reagente e campione possono essere proporzionalmente variati per adattarsi ai requisiti di spettrofotometri diversi.
- È possibile eseguire l'analisi a 25°C o 30°C aumentando il tempo di incubazione a 10 minuti e 6 minuti rispettivamente.
- Può essere eseguito anche a 334 o 365 nm.
- Campioni con valori di glucosio superiori a 42 mmol/L (756 mg/dL) devono essere diluiti con soluzione fisiologica isotonica e quindi analizzati nuovamente. Moltiplicare i risultati per il fattore di diluizione.
- Conversione unità: mmol/L x 18 = mg/dL.

CALIBRAZIONE

La calibrazione è necessaria. Si consiglia di utilizzare un calibratore a base di siero o acquoso standard con un valore assegnato tracciabile a uno standard principale (ad esempio NIST oppure IRMM). Per la frequenza di calibrazione mediante strumenti automatizzati, fare riferimento alle specifiche tecniche dello strumento utilizzato. In ogni caso, la stabilità di calibrazione dipende dalle prestazioni ottimali dello strumento e dall'impiego di reagenti conservati secondo le indicazioni fornite nella sezione di questo inserto relativa alla stabilità e alla osservazione. Si consiglia di effettuare una nuova calibrazione in ognuno dei seguenti casi:

- Cambiamento del numero di lotto del reagente
- Esecuzione di manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.
- Cambiamento dei valori di controllo o valori fuori intervallo; problema non risolto con una nuova fiala di controllo.

CONTROLLO QUALITÀ

Per garantire un controllo qualità adeguato i controlli normali e anormali devono essere effettuati come campioni sconosciuti:-

- Almeno ogni otto ore.
- Quando si utilizza una nuova bottiglia di reagente.
- In seguito a manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.

I risultati del controllo non rientranti nei limiti superiore o inferiore degli intervalli stabiliti indicano che il campione potrebbe essere fuori controllo.

In tali situazioni si consiglia di effettuare le seguenti azioni correttive:

- Ripetere gli stessi controlli.
- Se i risultati dei controlli ripetuti non rientrano nei limiti, preparare del siero di controllo nuovo e ripetere la prova.
- Se i risultati continuano ad essere fuori controllo, ricalibrare con un calibratore nuovo e ripetere la prova.
- Se i risultati continuano ad essere fuori controllo, effettuare una calibrazione con reagente appena preparato, quindi ripetere la prova.
- Se i risultati risultano ancora fuori controllo, contattare l'Assistenza tecnica o il distributore locale.

LIMITAZIONI

- Sono stati condotti degli studi per determinare il livello di interferenza da emoglobina, bilirubina e lipemia, ottenendo i seguenti risultati:

Emoglobina: Evitare l'uso di campioni emolizzati.

Bilirubina: Nessuna interferenza da bilirubina fino a 340 µmol/L (20 mg/dL).

Lipemia: Nessuna interferenza da lipemia, misurata come trigliceridi, fino a 5,6 mmol/L (500 mg/dL).

- Young DS⁷ ha pubblicato un elenco completo dei farmaci e delle sostanze in grado di interferire con questo saggio.

VALORI PREVISTI

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

Per la diagnosi del diabete o di una scarsa tolleranza al glucosio (GT), il W.H.O. raccomanda i seguenti criteri:¹⁰

	Plasma Venoso	Capillare
Diabete		
Digiuno	≥7,8 mmol/L (≥140 mg/dL)	≥7,8 mmol/L (≥140 mg/dL)
2 ore dopo il carico di glucosio	≥11,1 mmol/L (≥200 mg/dL)	≥12,2 mmol/L (≥200 mg/dL)
GT scarsa		
Digiuno	<7,8 mmol/L (<140 mg/dL)	<7,8 mmol/L (<140 mg/dL)
2 ore dopo il carico di glucosio	7,8-11,1 mmol/L (140-200 mg/dL)	8,9-12,2 mmol/L (160-220 mg/dL)

PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il Reagente Esocinasi al Glucosio su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza. Le prestazioni del prodotto devono essere comunque determinate dall'utente sulla base dell'analizzatore utilizzato.

IMPRECISIONE

L'imprecisione è stata valutata utilizzando due livelli di controllo commerciale e seguendo la procedura NCCLS EP5-T.¹¹

	LIVELLO I	LIVELLO II
Nel ciclo:		
Numero di Punti Dati	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
Totale:		
Numero di Punti Dati:	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

PRECISIONE

Sono stati condotti degli studi utilizzando un altro reagente esocinasi al glucosio reperibile sul mercato come riferimento. I campioni normali ed anormali di siero e plasma dei pazienti sono stati saggiati in parallelo. I risultati sono stati confrontati con regressioni al minimo quadrato, ottenendo le seguenti statistiche.

Numero di coppie di campioni	60
Intervallo risultati campione	1,9 - 26,1 mmol/L (34 - 469 mg/dL)
Media risultati metodo di rif.	5,4 mmol/L (97 mg/dL)
Media risultati Glucosio	5,3 mmol/L (96 mg/dL)
Pendenza	0,97
Intercetta	0,12 mmol/L (2,18 mg/dL)
Coefficiente di correlazione	1,00

LINEARITÀ

Quando condotta secondo le raccomandazioni, l'analisi è lineare fino a 42 mmol/L (756 mg/dL).


SENSIBILITÀ

Quando condotta secondo le raccomandazioni la sensibilità di quest'analisi è 0,017 ΔA per mmol/L o 0,001 ΔA per mg/dL (1cm percorso della luce, 340nm).

RIFERIMENTI

- 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.
- Penckoek 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

Dati per nuovi ordini

N°. Catalogo.	Configurazione
1520-200A	20 x 10 mL
TR15015	20 x 20 mL
TR15003/1520-500	10 x 50 mL
TR15004	10 x 200 mL