

Reactivo de Glucosa Enzimática

Método de la Glucosa Oxidasa

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	3 meses a 2-8°C
Intervalo Lineal	:	Hasta 40 mmol/L (720 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

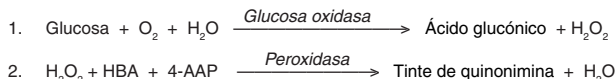
Este reactivo está pensado para uso diagnóstico in vitro en la determinación cuantitativa de glucosa en el suero, en el plasma o en la orina humana.

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

METODOLOGÍA

La reacción de la glucosa oxidasa junto con una reacción auxiliar se ha utilizado ampliamente para la determinación de la glucosa en los fluidos biológicos. Se han desarrollado multitud de reacciones auxiliares distintas a fin de mejorar la especificidad global del sistema de reacción o para retener la especificidad inherente de la glucosa oxidasa.³ El método utilizado en este reactivo se basa en la reacción indicadora de peróxido de hidrógeno que une 4-aminoantipirina a un compuesto fenólico, como propuso inicialmente Trinder.⁴ Este método se ha validado en un amplio estudio realizado por Pennock et al.⁵ Pennock comparó el método de Trinder con otros seis métodos comunes y descubrió que era muy fiable tanto en lo referente a la exactitud como a la precisión. Pennock⁵ y Sharp⁶ y Szasz et al⁷ mostraron adicionalmente que el método era resistente a los compuestos interferentes bien conocidos, tales como el ácido úrico, la glutatióna y la creatinina.



1. La glucosa se oxida por acción de la glucosa oxidasa para dar ácido glucónico y peróxido de hidrógeno.
2. El peróxido de hidrógeno reacciona en presencia de peroxidasa con HBA y con 4-aminoantipirina (4-AAP) para dar lugar a un tinte de quinonimina rojo. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa y se puede medir fotométricamente entre 460 y 560 nm.

Abreviaturas

HBA	=	Ácido 4-hidroxibenzoico
4-AAP	=	4-Aminoantipirina

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos

	Concentración
Glucosa oxidasa	>12000 U/L
Peroxidasa	> 60 U/L
4-aminoantipirina	0,3 mmol/L
Ácido 4-hidroxibenzoico	6 mmol/L
Tampón de fosfato	71 mmol/L

También contiene estabilizantes y cargas no reactivos.
pH 7,5 ± 0,10 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 Oxidasa. 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

	Representante autorizado		Limitación de temperatura
	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
	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 3 meses.

Indicios del deterioro del reactivo:

- Turbidez;
- Absorbancia del reactivo >0,60 AU (500 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 o EDTA.

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).⁸

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.⁴

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 500 nm (460-560 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	37°C
Longitud de onda primaria	500 nm (460 - 560 nm)
Longitud de onda secundaria	600 - 660 nm
Tipo de ensayo	Punto final
Dirección	Incremento
Muestra: Proporción de reactivo	1:150
p.ej. Vol de muestra	3 µL
Vol de reactivo	450 µL
Tiempo de incubación	10 minutos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,00 AU
(500 nm, paso de luz de 1cm)	Alto 0,60 AU
Linealidad	Hasta 40 mmol/L (720 mg/dL)
Sensibilidad	0,035ΔA por mmol/L
(500 nm, paso de luz de 1cm)	0,002ΔA 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	=	0,40
Absorbancia de desconocido	=	0,10
Valor del calibrador	=	13,2 mmol/L (238 mg/dL)

$$\text{Glucosa} = \frac{0,10}{0,40} \times 13,1 = 3,3 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Glucosa} = \frac{0,10}{0,40} \times 238 = 59,5 \text{ mg/dL}$$

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.

$$\text{Glucosa en la orina} = \frac{\text{Resultado de glucosa}}{\text{(mmol/24 horas)}} = \frac{\text{Resultado de glucosa}}{\text{(mmol/L)}} \times \frac{\text{Dilución}}{\text{Factor}} \times \frac{\text{Volumen}}{\text{(litros)}}$$

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.
- Las muestras con valores de glucosa mayores de 40 mmol/L (720 mg/dL) se deberían diluir con suero isotónico y volverse a analizar. Multiplique los resultados por el factor de dilución.
- Conversión unidad: mmol/L x 18 = mg/dL.
- Evite el contacto directo con la luz solar.

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 (libre y conjugada), lipemia y ascorbato. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Hemoglobina: No se observa interferencia debida a la hemoglobina hasta 1000 mg/dL.

Bilirrubina libre: No se observa interferencia debida a la bilirrubina libre hasta 975 µmol/L (57 mg/dL).

Bilirrubina conjugada: No se observa interferencia debida a la bilirrubina conjugada hasta 600 µmol/L (35 mg/dL).

Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como triglicéridos, hasta 11,5 mmol/L (1000 mg/dL).

Ascorbato: No se observa interferencia debida al ascorbato hasta 0,71 mmol/L (12,5 mg/dL).

- Para una revisión más completa de los factores que afectan a los ensayos de glucosa consulte la publicación de Young.⁹

VALORES ESPERADOS

Suero:¹⁰ 3,89-5,83 mmol/L (70-105 mg/dL)
 Orina:¹¹ 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:¹²

	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 Oxidasa 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.¹³

	NIVEL I	NIVEL II
Intraanálisis:		
Número de puntos de datos	80	80
Media (mmol/L / mg/dL)	5,57 / 100,2	18,45 / 332,1
SD (mmol/L / mg/dL)	0,08 / 1,39	0,20 / 3,58
C.V. (%)	1,4	1,1
Total:		
Número de puntos de datos	NIVEL I	NIVEL II
	80	80
Media (mmol/L / mg/dL)	5,57 / 100,2	18,45 / 332,1
SD (mmol/L / mg/dL)	0,16 / 2,9	0,44 / 7,9
C.V. (%)	3,0	2,4

EXACTITUD

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando otro reactivo de glucosa oxidasa disponible comercialmente como referencia. Se analizaron en paralelo muestras de suero 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	0,2 - 36,2 mmol/L (3,6 - 651,6 mg/dL)
Media de los resultados	11,8 mmol/L (212,4 mg/dL)
Media de los resultados de glucosa	11,9 mmol/L (214,2 mg/dL)
Pendiente	1,008
Ordenada en el origen	0,08 mmol/L (1,44 mg/dL)
Coefficiente de correlación	0,998

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 40 mmol/L (720 mg/dL).

SENSIBILIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,035ΔA por mmol/L o 0,002 ΔA por mg/dL (paso de luz 1cm, 500 nm).

BIBLIOGRAFÍA

- Zilva JF, Pannal 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.
- Sharp P. Clin Chem Acta 1972: 40:115
- Szasz G, et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974; 12:256
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4:61-7.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990; 3:168-182.
- 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.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

Información de Pedidos

No de Catalogue	Configuración
TR15103/1530-500	10 x 50 mL
TR15104	10 x 200 mL

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

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

840337 (R1)

