

Reactivo Líquido Estable de Glucosa Hexoquinasa

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-8°C
Intervalo Lineal	:	0 - 45 mmol/L (0 - 810 mg/dL)
Tipo de muestra	:	Suero, Plasma y Orina
Método	:	Punto final enzimático
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso.

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.

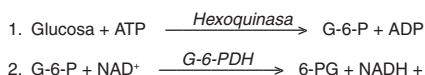
RELEVANCIA CLÍNICA

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
Tampón	37,6 mmol/L
ATP	2,1 mmol/L
NAD	2,5 mmol/L
Hexoquinasa (levadura recombinante)	>1500 U/L
G-6-PDH (Leuconostoc recombinante)	>2500 U/L

pH 7,7 ± 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 Líquido Estable de Glucosa Hexoquinasa Infinity.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El reactivo se suministra listo para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

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

Una vez que se ha abierto el reactivo:

Cuando se almacena refrigerado a 2-8°C, el reactivo es estable hasta la fecha de

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		

caducidad indicada en la etiqueta de la botella y de la caja del kit.

Indicios del deterioro del reactivo:

- Turbidez;
- Absorbancia del reactivo >0,5 (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 meritolato (0,23 mmol/L).⁴

Almacenamiento: La glucosa permanece estable, en plasma o suero no hemolizado y separado, hasta 72 horas a 4°C o hasta 8 horas a 25°C.^{2,5} Ante la presencia de fluoruro de sodio, la glucosa permanece estable por un período de 3 días a temperatura ambiente.⁶ Para un almacenamiento a largo plazo las muestras se deben colocar en envases sellados y congelarse a -10°C.⁷ Las muestras de orina son estables durante 1 día a 4°C.⁴

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Si se requieren, pipetas para administrar volúmenes medidos con precisión.
- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 340 nm (334-365 nm).
- 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	340 nm (334 - 365nm)
Longitud de onda secundaria	380 nm (380 - 410nm)
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	3 minutos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,00 AU
(340 nm, paso de luz de 1 cm)	Alto 0,50 AU
Linealidad	0-45 mmol/L (0-810 mg/dL)
Sensibilidad Analítica	0,038 ΔAbs por mmol/L
(340nm, paso de luz de 1cm)	(0,002 ΔAbs 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	=	0,30
Absorbancia de desconocido	=	0,10
Valor del calibrador	=	13,2 mmol/L (238 mg/dL)

$$\text{Glucosa} = \frac{0,10}{0,30} \times 13,2 = 4,4 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Glucosa} = \frac{0,10}{0,30} \times 238 = 79 \text{ mg/dL}$$

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.

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

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

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

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.
- También se puede analizar a 334 ó 365 nm.
- Las muestras con valores de glucosa mayores de 45 mmol/L (810 mg/dL) se deberán diluir con suero isotónico y volverse a analizar. Multiplique los resultados por el factor de dilución.
- Conversión a unidades: $\text{mmol/L} \times 18 = \text{mg/dL}$.

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 una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.
- Con cada calibración.

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, a la bilirrubina (libre y conjugada) y a la lipemia. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Hemoglobina: No se observa interferencia debida a hemoglobina hasta 470 mg/dL.

Bilirrubina libre: No se observa interferencia debida a bilirrubina libre hasta 281 $\mu\text{mol/L}$ (16,4 mg/dL).

Bilirrubina conjugada: No se observa interferencia debida a bilirrubina conjugada hasta 298 $\mu\text{mol/L}$ (17,4 mg/dL)

Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como triglicéridos, hasta 23 mmol/L (2000 mg/dL).

- Young DS⁹ ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS

Suero en ayunas:⁹ 4,11 – 5,56 mmol/L (74 - 100 mg/dL)

Orina:⁹ 0,06 – 0,83 mmol/L (1 - 15 mg/dL)

Para diagnosticar la diabetes, la Glucemia en Ayunas Alterada (GAA) o la Tolerancia a la Glucosa Alterada (TGA), la Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda que se sigan las siguientes pautas:¹⁰

Diabetes

Glucosa plasmática en ayunas $\geq 7,0 \text{ mmol/L}$ ($\geq 126 \text{ mg/dL}$)

2 horas después de la carga de glucosa $\geq 11,1 \text{ mmol/L}$ ($\geq 200 \text{ mg/dL}$)

GAA

Glucosa plasmática en ayunas 6,1-6,9 mmol/L (110-125 mg/dL)

TGA

Glucosa plasmática en ayunas $\leq 7,0 \text{ mmol/L}$ ($\leq 126 \text{ mg/dL}$)

2 horas después de la carga de glucosa 7,8-11,0 mmol/L (140-199 mg/dL)

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el Reactivo Líquido Estable de Glucosa Hexoquinasa Infinity 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 a lo largo de un período de 20 días usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T.¹¹

Intraanálisis:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (mmol/L / mg/dL)	5,09 / 91,6	19,27 / 346,9
SD (mmol/L / mg/dL)	0,08 / 1,44	0,26 / 4,68
C.V. (%)	1,6	1,4

Total:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (mmol/L / mg/dL)	5,09 / 91,6	19,27 / 346,9
SD (mmol/L / mg/dL)	0,20 / 3,6	0,85 / 15,3
C.V. (%)	3,9	4,4

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

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 orina de pacientes normales y anormales. Los resultados se compararon mediante regresión por mínimos cuadrados y se obtuvieron los siguientes datos estadísticos:

Suero/Plasma:

Número de pares de muestras	60
Intervalo de los resultados de las muestras	2,3 - 26,7 mmol/L (41,4 - 480,1 mg/dL)

Media de los resultados del procedimiento de referencia	6,25 mmol/L (112,5 mg/dL)
Media de los resultados de glucosa HK Infinity	6,27 mmol/L (112,9 mg/dL)
Pendiente	1,021
Ordenada en el origen	-0,13 mmol/L (-2,34 mg/dL)
Coefficiente de correlación	0,9993

Orina:

Número de pares de muestras	60
Intervalo de los resultados de las muestras	0,0 - 44,0 mmol/L (0,0 - 792,0 mg/dL)

Media de los resultados del procedimiento de referencia	9,8 mmol/L (176 mg/dL)
Media de los resultados de glucosa HK Infinity	10,4 mmol/L (187 mg/dL)
Pendiente	1,086
Ordenada en el origen	-0,29 mmol/L (-5,22 mg/dL)
Coefficiente de correlación	0,9962

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal entre 0 y 45 mmol/L (0 - 810 mg/dL).


SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es des 0,038 ΔAbs por mmol/L de 0,002 ΔAbs por mg/dL (paso de luz 1cm, 340nm).

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. Chap 54: 1032-1035.
- Farrance I. Clin Biochem Reviews 1987; 8: 55-68.
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4: 61-7.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. (2nd Ed) Burtis and Ashwood. 1994; Chap 22: 959.
- Chan et al; Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood. Clin Chem., 35; 315-317, 1989.
- Sherman S et al; Studies of the Stability of 18 Chemical constituents of Human Serum. Clin Chem. Vol 18, No. 12: 1498, 1972
- Young DS, et al. Clin Chem 1975; 5: 1D-432D.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. (4th Ed) Burtis, Ashwood & Bruns 2005; VII: 2270-2271.
- World Health Organisation Laboratory Diagnosis and Monitoring of Diabetes Mellitus. Reinauer H, et al. 2002; 16.
- 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. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 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

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



REF

Información de Pedidos

No de Catalogue	Configuración
TR15421	2 x 125 mL
1524-400H	4 x 100 mL (Hitachi)
TR15426	2 x 250 mL
TR15498	2 x 500 mL
TY15401	4 x 53 mL (Hitachi)