

Infinity™

Reagente esochinasi al glucosio

SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	: 12 mesi a 2 - 8°C
Intervallo lineare	: 0 - 45 mmol/L (0 - 810 mg/dL)
Tipo di campione	: Siero o Urina
Metodo	: Endpoint enzimatico
Preparazione reagente	: Aggiunta del volume di acqua distillata o deionizzata specificato.

USO PREVISTO

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

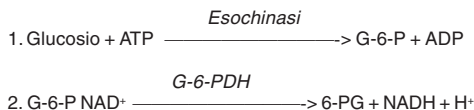
IMPORTANZA CLINICA

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'insulina, 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 filtrati 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 Infinity™ 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
Buffer	37,6 mmol/L
ATP	2,1 mmol/L
NAD	2,5 mmol/L
Esochinasi (lievito ricombinante)	>1500 U/L
G-6-PDH (Leuconostoc ricombinante)	>2500 U/L

pH 7,7 ± 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 azide che a contatto con impianti idraulici in rame o piombo può causare reazioni. Smaltire con abbondante acqua. Per maggiori informazioni, consultare la scheda di sicurezza del Reagente esochinasi al glucosio Infinity™.

R22 Nocivo per ingestione.

R32 A contatto con acidi libera gas molto tossico.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

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

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 in frigorifero a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla bottiglia e sull'etichetta della scatola del kit.

Reagente ricostituito:

Se conservato chiuso a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile per almeno 12 mesi o fino alla data di scadenza indicata, se precedente ai 12 mesi.

Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità,
- Assorbanza del reagente > 0,50 UA a 340nm, 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.

Campione: Utilizzare siero non emolizzato.

Urina: Se si prevede un ritardo nel trasporto al laboratorio, utilizzare un conservante chimico, come ad esempio Mertiolo (0,23 mmol/L).⁴

Conservazione: ² 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.^{5,6} I campioni di urine sono stabili per 1 giorno a 4°C.⁴

STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Se necessario, pipette per il dosaggio accurato dei volumi misurati.
- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbanza a 340 nm, 334 nm o 365 nm.
- Acqua distillata o deionizzata per la preparazione del reagente e relativa strumentazione, ad es.: pipette.
- 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	37°C
Lunghezza d'onda primaria	340 nm (334 nm, 365 nm)
Lunghezza d'onda secondaria	380 - 410 nm
Tipo di analisi	Endpoint
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1 : 150
ad es.: Vol. campione	3 µL
Vol. reagente	450 µL
Tempo di incubazione	3 minuti
Limiti Blank del reagente	Basso 0,00 AU
(340nm, 1cm percorso luce)	Alto 0,50 AU
Linearità	0-45 mmol/L (0-810mg/dL)
Sensibilità	0,038 ΔAbs per mmol/L
(340nm, 1cm percorso luce)	0,002 ΔAbs per mg/dL

CALCOLI

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

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

Esempio:

Assorbanza del calibratore	= 0,30
Assorbanza di sconosciuto	= 0,10
Valore del calibratore	= 13,2 mmol/L (238 mg/dL)

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

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

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.

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

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

1. I volumi di reagente e campione possono essere proporzionalmente variati per adattarsi ai requisiti di spettrofotometri diversi.
2. Può essere eseguito anche a 334 o 365 nm.
3. Campioni con valori di glucosio superiori a 45 mmol/L (810 mg/dL) devono essere diluiti con soluzione fisiologica isotonica e quindi analizzati nuovamente. Moltiplicare i risultati per il fattore di diluizione.
4. Fattore di conversione SI: 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 conservazione. 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

1. Sono stati condotti degli studi per determinare il livello di interferenza da emoglobina, bilirubina (libera e coniugata), lipemia. I risultati ottenuti sono come segue:

Emoglobina: Nessuna interferenza da emoglobina fino a 470 mg/dL

Bilirubina libera: Nessuna interferenza da bilirubina libera fino a 281 µmol/L (16,4 mg/dL)

Bilirubina coniugata: Nessuna interferenza da bilirubina coniugata fino a 298 µmol/L (17,4 mg/dL).

Lipemia: Nessuna interferenza da lipemia, misurata come trigliceridi fino a 23 mmol/L (2000 mg/dL).

2. Per un più completo resoconto dei fattori in grado di influenzare le analisi del glucosio fare riferimento alla pubblicazione di Young.⁷

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

Diabete	Venoso	Capillare
Digiuno	>7,8 mmol/L	>7,8 mmol/L
2 ore dopo il carico di glucosio	>11,1 mmol/L	>12,2 mmol/L

GT scarsa	Venoso	Capillare
Digiuno	<7,8 mmol/L	<7,8 mmol/L
2 ore dopo il carico di glucosio	7,8-11,2mmol/L	8,9 -12,2 mmol/L

PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il reagente esochinasi al glucosio Infinity™ 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 su un periodo di 20 giorni utilizzando due livelli di controllo commerciale e seguendo la procedura NCCLS EP5-T.¹¹

Nell'esecuzione:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	80	80
Media (mmol/L)	5,09	19,27
Media (mg/dL)	91,6	346,9
SD (mmol/L)	0,08	0,26
SD (mg/dL)	1,44	4,68
CV (%)	1,6	1,4
Totale:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	80	80
Media (mmol/L)	5,09	19,27
Media (mg/dL)	91,6	346,9
SD (mmol/L)	0,20	0,85
SD (mg/dL)	3,6	15,3
CV (%)	3,9	4,4

PRECISIONE

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

Siero/Plasma:

Numero di coppie di campioni	60
Intervallo risultati campione	2,3 - 26,7 mmol/L(41,4 - 480,1 mg/dL)
Media risultati metodo di rif.	6,25 mmol/L (112,5 mg/dL)
Media dei risultati con Glucosio Infinity™	6,27 mmol/L (112,9 mg/dL)
Pendenza	1,021
Intercetta	-0,13 mmol/L (-2,34 mg/dL)
Coefficiente di correlazione	0,9993

Urina:

Numero di coppie di campioni	60
Intervallo risultati campione	000 - 44,0 mmol/L(0,0 - 792,0 mg/dL)
Media risultati metodo di rif.	9,8 mmol/L (176 mg/dL)
Media dei risultati con Glucosio Infinity™	10,4 mmol/L (187 mg/dL)
Pendenza	1,086
Intercetta	-0,29 mmol/L (-5,22 mg/dL)
Coefficiente di correlazione	0,9962

LINEARITÀ

Quando condotto secondo le raccomandazioni, il saggio è lineare tra 0 & 45 mmol/L (0 - 810 mg/dL).

SENSIBILITÀ

Quando condotta secondo le raccomandazioni la sensibilità di quest'analisi è 0,038 ΔAbs per mmol/L or 0,002 ΔAbs per mg/dL (1cm percorso della luce, 340nm).

RIFERIMENTI

1. Zilva JF, Pannall PR. Carbohydrate Metabolism in "Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment". Lloyd-Luke London 1979, Chap 9: 174-214.
2. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed) "Clinical Chemistry Theory, Analysis and Correlation". CV Mosby Company 1984.
3. Farrance I. Clin Biochem Reviews 1987; 8: 55-68.
4. Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4:61-7.
5. Trinder P. Ann Clin Biochem. 1969; 6: 24.
6. Penco CA, et al. Clin Chem Acta 1973; 49: 193.
7. Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990; 3:168-182.
8. Caraway WT in "Fundamentals of Clinical Chemistry"NM Tietz (Ed) W.B. Saunders, Philadelphia 1976; Chap 6: 242.
9. Richterich R, Colombo JP. Klinische Chemie 4 Ed Basel:Kerger 1978: 531.
10. Farrance I, Garcia-Webb P. Clin Biochem Reviews 1987:8: 48-50.
11. National Committee of Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices NCCLS 1984; NCCLS publication EP5-T.

© 2004 Thermo Electron Corporation. All rights reserved.



Thermo Electron
 189-199 Browns Road,
 Noble Park, Victoria, 3174
 AUSTRALIA
 Phone: (03) 9790 4100
 Fax: (03) 9790 4155
 Email: sales.clinicalchemistry@thermo.com
 www.thermo.com/clinicalchemistry

Thermo Electron
 331 South 104th Street
 Louisville, CO, 80027
 U.S.A.
 Phone: (800) 558 9115
 Fax: (303) 581 6429



MediMark Europe Sarl. 11, rue Emile Zola. BP 2322
 F-38033 Grenoble Cedex 2. France
 Phone: +33 (0) 4 76 86 43 22
 Fax: +33 (0) 4 76 17 19 82



REF

Dati per nuovi ordini e assistenza tecnica

	N°. Catalogo.	Configurazione	
	TR15321	2 x 125 mL	
Telefono	L'Australia 1800 333 110	Internazionale 61 3 9790 4100	U.S.A (800) 558 9115
Fax	(03) 9790 4155	61 3 9790 4155	(303) 581 6429