

# Reagente Glucosio Enzimatico

## Metodo Glucosio Ossidasi

### SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	3 mesi a 2-8°C
Intervallo lineare	:	Fino a 40 mmol/L (720 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

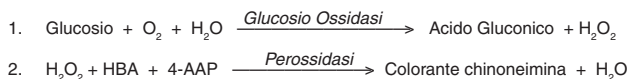
Questo reagente è per uso diagnostico in vitro per la determinazione quantitativa di glucosio nel siero umano, plasma o urina umano.

#### 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.<sup>1</sup> 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.<sup>2</sup>

#### METODOLOGIA

La reazione glucosio ossidasi congiuntamente a una reazione ausiliaria è stata ampiamente utilizzata per la determinazione del glucosio nei liquidi biologici. Al fine di perfezionare la specificità complessiva del sistema di reazioni o di conservare la specificità inerente del glucosio ossidasi sono state sviluppate numerose reazioni ausiliarie diverse.<sup>3</sup> Il metodo utilizzato in questo reagente si basa sulla reazione dell'indicatore del perossido di idrogeno che accoppia 4-aminoantipirina a un composto fenolico come già proposto in precedenza da Trinder.<sup>4</sup> Questo metodo è stato approvato durante uno studio approfondito da Pennock et al.<sup>5</sup> Pennock ha confrontato il metodo di Trinder con altri sei metodi tradizionali dimostrandone l'estrema affidabilità in termini di accuratezza e precisione. Pennock<sup>5</sup>, Sharp<sup>6</sup> e Szasz et al<sup>7</sup> hanno inoltre dimostrato che il metodo è resistente a ben noti composti interferenti quali acido urico, glutatione e creatinina.



1. Il glucosio viene ossidato dal glucosio ossidasi in acido gluconico e perossido di idrogeno.
2. Il perossido di idrogeno in presenza di perossidasi reagisce con HBA e 4-aminoantipirina formando un colorante chinoneimina rosso. L'intensità del colore formato è proporzionale alla concentrazione di glucosio e può essere misurata fotometricamente tra 460 e 560 nm.

#### Abbreviazioni

HBA	=	4-Acido idrossibenzoico
4-AAP	=	4-Aminoantipirina

#### COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

##### Ingredienti attivi

	Concentrazione
Glucosio ossidasi	> 12000 U/L
Perossidasi	> 60 U/L
4-Aminoantipirina	0,3 mmol/L
4-Acido idrossibenzoico	6 mmol/L
Tampone Fosfato	71 mmol/L

Contiene anche stabilizzanti e sostanze aggiunte non reattive.  
pH 7,5 ± 0,10 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 azzide 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 Glucosio Ossidasi. 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 lappelle 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

<b>EC REP</b>	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
<b>IVD</b>	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
<b>LOT</b>	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
<b>REF</b>	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 3 mesi.

##### Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità;
- Assorbanza del reagente >0,60 AU (500 nm, 1 cm percorso della luce); e/
- 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 fluoro di sodio. Il siero o il plasma devono essere separati dalle cellule prima possibile.

**Siero:** Utilizzare siero non emolizzato.

**Plasma:** Utilizzare EDTA o Eparina.

**Urina:** Se si prevede un ritardo nel trasporto al laboratorio, utilizzare un conservante chimico, come ad esempio Mertiolo (0,23 mmol/L).<sup>8</sup>

**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.<sup>4,5</sup> I campioni di urine sono stabili per 1 giorno a 4°C.<sup>4</sup>

#### STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbanza a 500 nm (460-560 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	37°C
Lunghezza d'onda primaria	500 nm (460 - 560 nm)
Lunghezza d'onda secondaria	600 - 660 nm
Tipo di analisi	Punto finale
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1:150
ad es.: Vol. campione	3 µL
Vol. reagente	450 µL
Tempo di incubazione	10 minuti
Limiti Blank del reagente	Basso 0,00 AU
(500 nm, 1cm percorso luce)	Alto 0,60 AU
Linearità	Fino a 40 mmol/L (720 mg/dL)
Sensibilità	0,035 ΔA per mmol/L
(500 nm, percorso luce 1cm)	0,002 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	=	0,40
Assorbanza di sconosciuta	=	0,10
Valore del calibratore	=	13,2 mmol/L (238 mg/dL)

$$\text{Glucosio} = \frac{0,10}{0,40} \times 13,2 = 3,3 \text{ mmol/L}$$

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

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.

Glucosio nelle urine = Risultato glucosio x Diluizione x Volume  
(mmol/24 ore) (mmol/L) 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**

- I volumi di reagente e campione possono essere proporzionalmente variati per adattarsi ai requisiti di spettrofotometri diversi.
- Campioni con valori di glucosio superiori a 40 mmol/L (720 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.
- Non esporre a luce solare diretta.

**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 QUALITA'**

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 (libera e coniugata), lipemia e ascorbato. I risultati ottenuti sono:  
**Emoglobina:** Nessuna interferenza da emoglobina fino a 1000 mg/dL  
**Bilirubina libera:** Nessuna interferenza da bilirubina libera fino a 975 µmol/L (57 mg/dL).  
**Bilirubina coniugata:** Nessuna interferenza da bilirubina coniugata fino a 600 µmol/L (35 mg/dL).  
**Lipemia:** Nessuna interferenza da lipemia, misurata come trigliceridi, fino a 11,5 mmol/L (1000 mg/dL).  
**Ascorbato:** Nessuna interferenza da ascorbato fino a 0,71 mmol/L (12,5 mg/dL).
- Per un più completo resoconto dei fattori in grado di influenzare le analisi del glucosio fare riferimento alla pubblicazione di Young<sup>9</sup>.

**VALORI PREVISTI**

Siero:<sup>10</sup> 3,89 -5,83 mmol/L (70-105 mg/dL)  
Urina:<sup>11</sup> 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:<sup>12</sup>

	Plasma Venoso	Capillare
<b>Diabete</b>		
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)
<b>GT scarsa</b>		
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 Glucosio Ossidasi 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.<sup>13</sup>

	LIVELLO I	LIVELLO II
<b>Nel ciclo:</b>		
Numero di Punti Dati	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
<b>Totale:</b>	<b>LIVELLO I</b>	<b>LIVELLO II</b>
Numero di Punti Dati:	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

**PRECISIONE**

Sono stati condotti degli studi utilizzando un altro reagente glucosio ossidasi reperibile sul mercato come riferimento. I campioni normali ed anormali di siero 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	0,2 - 36,2 mmol/L (3,6 - 651,6 mg/dL)
Media risultati metodo di rif.	11,8 mmol/L (212,4 mg/dL)
Media risultati Glucosio	11,9 mmol/L (214,2 mg/dL)
Pendenza	1,008
Intercetta	0,08 mmol/L (1,44 mg/dL)
Coefficiente di correlazione	0,998

**LINEARITA'**

Quando condotta secondo le raccomandazioni, l'analisi è lineare fino a 40 mmol/L (720 mg/dL).

**SENSIBILITA'**


Quando condotta secondo le raccomandazioni la sensibilità di quest'analisi è 0,035 ΔA per mmol/L o 0,002 ΔA per mg/dL (1cm percorso della luce, 500 nm).

**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.
- 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	Dati per nuovi ordini	
	N° Catalogo	Configurazione
	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

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

840337 (R1)

