



GLUCOSA-SL

Números de catálogo: 235-15	Presentación: 10 x 15 mL
235-17	5 x 100 mL
235-60	2 x 100 mL
235-50	4 x 500 mL
235-99	1 x 1000 mL

USO

Equipo diagnóstico para la determinación cuantitativa *in vitro* de glucosa en suero.

PRECAUCION

Evitar la ingestión y el contacto con la piel y los ojos. Vea la Hoja de Seguridad del Material

REACTIVOS

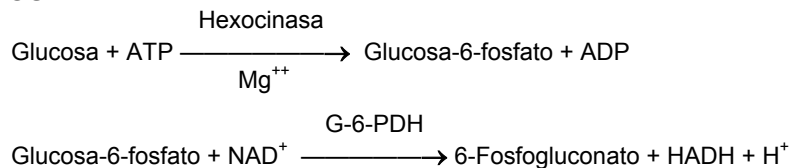
Reactivo de Glucosa: solución amortiguada que contiene 2 mmol/L de dinucleótido de nicotinamida adenina, 4 mmol/L de ATP, 2 mmol/L de magnesio, > 2000 U/L de hexocinasa (de levadura), > 4000 U/L de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (*Leuconostoc mesenteroides*), estabilizadores y conservadores

ANTECEDENTES

La determinación de las concentraciones de glucosa en los líquidos biológicos ha sido bien documentada. Las pruebas de glucosa son diagnósticamente importantes en la detección de diabetes, hipoglucemia y diversos trastornos suprarrenales e hipofisarios.

Los métodos enzimáticos para la determinación de glucosa fueron descritos por primera vez por Keilin and Hartree (1). La FDA ha propuesto como el método de referencia para la glucosa un procedimiento totalmente enzimático utilizando hexocinasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (2). Passey y col. hicieron una revisión exhaustiva de 10 métodos de glucosa y an utilizado el procedimiento de la hexocinasa como el método de referencia..

PRINCIPIOS



La glucosa es fosforilada por la hexocinasa (HK) en presencia de trifosfato de adenosina (ATP) y magnesio para formar glucosa-6-fosfato (G-6-P) y difosfato de adenosina (ADP). El G-6-P es oxidado entonces por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) en presencia de dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD) produciendo 6-fosfogluconato y NADH.

La formación de NADH produce un aumento en la absorbancia a 340 nm que es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

PREPARACION DEL REACTIVO

El reactivo es suministrado listo para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

El reactivo incluido es estable hasta la fecha de caducidad especificada en la etiqueta a 2-8°C.

DETERIORO DEL REACTIVO

La solución del reactivo debe ser clara. Una turbidez indicaría deterioro.

INSTRUMENTOS

Puede usarse cualquier analizador con control de temperatura de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 340 nm. El ancho de banda deberá ser de 10 nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o menos y la exactitud de longitud de onda dentro de 2 nm.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

La muestra de elección es suero fresco, claro y no hemolizado. El suero debe separarse de las células tan pronto como sea posible para minimizar la descomposición de la glucosa por el proceso de glicólisis. En muestras adecuadamente procesadas, las concentraciones de glucosa son estables hasta por 3 días a 4°C(4)

INTERFERENCIAS

Se evaluó la interferencia de la hemólisis, ictericia y lipemia para este método de glucosa en el analizador Hitachi 704.

Se estudiaron las concentraciones de hemoglobina de 0-155 $\mu\text{mol/L}$ (0-1000 mg/dL). No se encontró interferencia importante por hemoglobina.

Una concentración de hemoglobina de 155 $\mu\text{mol/L}$ (1000 mg/dL) produjo una interferencia positiva de 3% en una muestra de glucosa de 5.3 mmol/L (96 mg/dL).

Se estudiaron concentraciones de bilirrubina de 0-684 $\mu\text{mol/L}$ (0-40 mg/dL) con resultados aceptables a niveles de 342 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL). A una concentración de bilirrubina de 342 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL) se determinó una interferencia negativa de 6% en una muestra de glucosa de 5.5 mmol/L (99 mg/dL).

Se estudiaron niveles de intralípidos de 0-1000 mg/dL con resultados aceptables a 100 mg/dL. A una concentración de intralípidos de 100 mg/dL se produjo una interferencia positiva de 8.5% en una muestra de glucosa de 5 mmol/L (91 mg/dL). Una concentración de intralípidos de 100 mg/dL equivale a 300 mg/dL de triglicéridos.

Cuando se analizan muestras turbias o lipémicas se recomienda llevar a cabo una corrección con blanco de muestra. Este blanco de muestra puede prepararse empleando 25 μL de muestra y 2.5 mL de agua desionizada. La absorbancia de esta solución se determina a 340 nm y se resta de la absorbancia de esa muestra con el reactivo.

Puede encontrar un resumen de la influencia de drogas en las pruebas de laboratorio clínico consultando a Young, D.S. (7).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se incluye el reactivo necesario para la determinación de glucosa.

Materiales Requeridos

1. Un analizador que reúna los requisitos mencionados en la Sección de Instrumentos.
2. Cubetas de 1 cm o una celda de flujo capaz de transmitir la luz a 340 nm.
3. Tubos de ensayo del tamaño adecuado.
4. Pipetas del tamaño adecuado.
5. Agua desionizada.
6. Un cronómetro adecuado
7. Un estándar o calibrador de glucosa adecuado

Condiciones

	Genéricos	Analizadores automatizados
Longitud de onda	340 nm	340 nm / 376 nm
Temperatura	18-26°C	37°C
Paso de luz	1 cm	
Tipo de reacción	Punto final	Punto final
Tiempo de reacción	5 minutos	5 minutos
Volumen de la muestra	25 µL	4.0 µL
Volumen de reactivo	2.5 mL	400 µL
Volumen total	2.525 mL	404 µL
Relación muestra/reactivo	1:100	1:100

Procedimiento

1. En tubos de ensayo por separado, pipetee 25 µL de agua desionizada, del calibrador o del plasma que se vaya a analizar.
2. Agregue 2.5 mL del reactivo y mezcle.
3. Incube por 5 minutos
4. Determine la absorbancia del calibrador (As) y de cada muestra desconocida (A) a 340 nm utilizando la muestra de agua desionizada como blanco de reactivo.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la mezcla de reacción final es estable por 30 minutos.

CALIBRACION

El equipo no incluye un estándar de glucosa; sin embargo, debe usarse un estándar o calibrador de glucosa de acuerdo con las instrucciones para calibrar el procedimiento.

CONTROL DE CALIDAD

Se debe analizar un suero control con nivel normal y anormal en cada serie de muestras, y los resultados deberán caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULO Y RESULTADOS

Resultados

La concentración de glucosa se expresa en mmol/L (mg/dL).

Cálculo

$$\text{Glucosa mmol/L (mg/dL)} = \frac{A}{A_s} \times \text{concentración del estándar}$$

A = absorbancia de la muestra desconocida

A_s = absorbancia del estándar

Ejemplo

$$\begin{aligned} \text{Glucosa mmol/L (mg/dL)} &= \frac{0.325}{0.604} \times 8.4 \\ &= 4.5 \text{ mmol/L (81 mg/dL)} \end{aligned}$$

0.325 = absorbancia de la muestra desconocida

0.604 = absorbancia del estándar

8.4 mmol/L (151 mg/dL) = concentración del estándar

Limitaciones

Una muestra con un nivel de glucosa que exceda el límite de linealidad, deberá diluirse con solución salina a 0.9% y deberá reensayarse incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

VALORES ESPERADOS (4)

3.9 - 5.8 mmol/L (70-105 mg/dL)

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal para el área donde está localizado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estas características de rendimiento se obtuvieron en los laboratorios de DCL usando procedimientos automatizados a menos que se indique lo contrario.

Estudio de Recuperación

Se agregó glucosa a dos grupos de sueros humanos para aumentar la concentración en 0.73 mmol/L (13 mg/dL) y 1.43 mmol/L (26 mg/dL). La recuperación de la glucosa agregada fue de 105% en promedio.

Rango Lineal (NCCLS EP6-P)

La linealidad depende de la proporción muestra / reactivo utilizada. El procedimiento automatizado descrito proporcionó una linealidad de 33.31 mmol/L (600 mg/dL).

Límite Inferior de Detección

El límite inferior de linealidad encontrado es de 0.03 mmol/L (0.6 mg/dL).

Estudios de Precisión (NCCLS EP5-T2)

Se recopiló los datos de dos niveles de sueros control utilizando un solo lote de reactivo en 40 corridas realizadas durante 20 días.

Nivel		DE Total		CV Total %	DE dentro de la corrida		CV dentro de la corrida %
mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL		mmol/L	mg/dL	
4.91	88.5	0.06	1.1	1.3	0.02	0.4	0.4
14.25	256.7	0.17	3.1	1.2	0.06	1.1	0.4

Exactitud (NCCLS EP9-P)

Se comparó el rendimiento de este método (y) con el de un método para glucosa similar (x) en un Hitachi 704. Las muestras de suero de 50 pacientes oscilaron de 2.11 mmol/L (38 mg/dL) hasta 16.38 mmol/L (295 mg/dL) dando un coeficiente de correlación fue de 0.9992. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 0.9849 (\text{método de referencia}) + 0.13 \text{ mmol/L.}$$

REFERENCIAS

1. Keilin, D. Hartree, E.F., Biochem. J. 42, 250 (1948).
2. United States Department of Health, Education and Welfare, Food and Administration. In Vitro Diagnostic Products for Human Use, Proposed Establishment of Glucose, Fed. Regist. 39, No. 126, 24136-24147 (1974).
3. Passey, R.B., Gillum, R.L., Fuller, J.B., Urry, F.M., Giles, M.L., Evaluation and Comparison of Ten Glucose Methods and the Reference Method Recommended in the Proposed Product Class Standard (1974), Clin. Chem. 23, 131-139 (1977).
4. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Editors, Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA (1994).
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AACC Press, Washington (1990).