



# Fructosamina

AA

Método colorimétrico (NBT) para la determinación de fructosamina en suero o plasma

## SIGNIFICACION CLINICA

La patología más común relacionada con el metabolismo de los hidratos de carbono es la diabetes mellitus. El diagnóstico precoz y el control de los pacientes diabéticos, tienen por objeto evitar la cetoacidosis y las complicaciones resultantes de la hiperglicemia, mediante el tratamiento adecuado. Dado que existen múltiples factores causales de hiper- o hipoglicemia, debe considerarse en cada caso la condición fisiológica y/o la patología presente en el paciente.

Las proteínas glicosiladas (fructosaminas) se forman por enlace covalente de la glucosa con residuos lisina de las proteínas sanguíneas (principalmente albúmina) dando lugar a bases de Schiff que en una segunda etapa son transformadas irreversiblemente en cetoaminas (fructosaminas). Esta reacción es dependiente de la concentración de glucosa sanguínea y del tiempo de interacción con las proteínas. Las fructosaminas permanecen en sangre actuando como "memoria glicémica" hasta ser metabolizadas de manera análoga a las demás proteínas del suero. Como consecuencia, la concentración de fructosamina representa en forma retrospectiva, un índice de la media de las fluctuaciones de la concentración de glucosa sanguínea, dos a tres semanas previas a la realización del análisis.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

El método se basa en la propiedad del grupo cetoamino de las proteínas glicosiladas de reducir la sal de tetrazolio (NBT) en medio alcalino, a formazán, el cual se mide colorimétricamente a 530 nm. La velocidad de formación del formazán es directamente proporcional a la concentración de fructosamina presente en la muestra.

## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución conteniendo nitroblue tetrazolio (NBT) 0,25 mmol/l en buffer carbonato 0,2 mol/l.

**S. Standard\*:** liofilizado conteniendo proteínas glicosiladas de origen animal, en una concentración entre 200 - 700  $\mu$ mol/l de albúmina glicosilada (1,7 - 6,1 mmol/l de DMF, desoximorfolinofructosa). La concentración, variable lote a lote, figura en el rótulo.

## REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua bidestilada o desionizada.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** listo para usar.

**Standard:** reconstituir con 1 ml de agua destilada medida exactamente con micropipeta de precisión o pipeta de doble

aforo. Tapar y mezclar suavemente por inversión. No agitar. Dejar reposar unos 60 minutos a temperatura ambiente, mezclando por inversión ocasionalmente. Fechar. Inmediatamente antes de usar, homogeneizar por inversión.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Conservar el Reactivo A al abrigo de la luz.

**Standard reconstituido:** estable 15 días en refrigerador (2-10°C) o 45 días congelado (-20°C) y alicuotado.

## MUESTRA

Suero o plasma

**a) Recolección:** se debe obtener suero de la manera usual o plasma con heparina o EDTA. Ver VALORES DE REFERENCIA.

**b) Sustancias interferentes conocidas:** las muestras con hemólisis visible o intensa no pueden ser empleadas. No se observan interferencias por triglicéridos hasta 10 g/dl, bilirrubina hasta 20 mg/l, ácido úrico hasta 150 mg/l y hemólisis ligera. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**c) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** las muestras deben ser preferentemente frescas. En caso de no procesarlas en el momento, pueden conservarse hasta 7 días refrigeradas (2-10°C) o 2 meses congeladas (-20°C).

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

## CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 530 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (490 - 530 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C

- Tiempo de reacción: 15 minutos
  - Volumen de muestra: 50 ul
  - Volumen final de reacción: 1,05 ml
- Los volúmenes de Muestra y Reactivo A pueden variarse proporcionalmente (ej.: 100 ul Muestra + 2 ml Reactivo A).

### PROCEDIMIENTO

En dos tubos marcados S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	S	D
<b>Standard</b>	50 ul	-
<b>Muestra</b>	-	50 ul
<b>Reactivo A</b>	1 ml	1 ml

Mezclar bien y colocar en baño de agua a 37°C. Disparar inmediatamente el cronómetro. Leer la absorbancia de la Muestra y del Standard a los 10 minutos (S<sub>1</sub> o D<sub>1</sub>) y a los 15 minutos (S<sub>2</sub> o D<sub>2</sub>) en espectrofotómetro a 530 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm) llevando el aparato a cero con agua destilada.

### CALCULO DE LOS RESULTADOS

La diferencia de absorbancia entre las dos lecturas es proporcional a la concentración de fructosamina, por lo tanto el cálculo es el siguiente:

$$\text{fructosamina (umol/l o mmol/l)} = (D_2 - D_1) \times f$$

$$f = \frac{C^*}{S_2 - S_1}$$

\* Concentración del Standard en umol/l (albúmina glicosilada) o mmol/l (DMF)

### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

**Fructosamina Control 2 niveles** de Wiener lab.

### VALORES DE REFERENCIA

205 - 285 umol/l (albúmina glicosilada)  
1,9 - 2,9 mmol/l (DMF)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia teniendo en cuenta edad, sexo, hábitos alimenticios y otros factores.

Se pueden observar valores disminuidos en pacientes con pérdidas elevadas de albúmina o en enfermedades del catabolismo proteico.

Se ha encontrado que los niveles de fructosamina plasmática son levemente inferiores a los de fructosamina sérica.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Los reductores disminuyen la respuesta de color, mientras que los oxidantes colorean el Reactivo aumentando los Blancos. Se recomienda realizar una recalibración semanal o cada vez que se obtengan valores fuera del rango aceptable de los controles (Fructosamina Control 2 niveles).

### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando simultáneamente 20 replicados de las mismas muestras, se obtuvieron los siguientes datos:

Nivel	C.V.
265 umol/l (2,3 mmol/l)	1,3 %
731 umol/l (6,3 mmol/l)	0,7 %

**b) Linealidad:** la reacción es lineal hasta 800 umol/l (7 mmol/l DMF). Para valores superiores, diluir al 1/2 la solución coloreada final con el Reactivo y repetir la lectura multiplicando el resultado final por 2.

**c) Recuperación:** agregando cantidades conocidas de fructosamina a distintas muestras se obtuvo una recuperación entre el 95 y el 99,6%.

**d) Sensibilidad analítica:** basada en una lectura mínima del instrumento de 0,001 D.O., el mínimo cambio de concentración detectable en estas condiciones será aproximadamente 35 umol/l de albúmina glicosilada.

### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del analizador en uso.

### PRESENTACION

- 1 x 37 ml (Cód. 1008137)\*.
- 2 x 50 ml (Cód. 1400050).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009281).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009381).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009615).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009923).

### BIBLIOGRAFIA

- Ambruster, D.A. - Clin. Chem. 33/12:2153 (1987).
- Baker, J.R. - Clin. Chem. 31/9:1550 (1985).
- Scheicher, E.D. and Vogt, B.W. - Clin. Chem. 36/1:136 (1990).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# Fructosamina

## AA

Método colorimétrico (NBT) para a determinação de fructosamina em soro ou plasma

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A patologia mais frequente relacionada com o metabolismo dos hidratos de carbono é a diabetes mellitus. O diagnóstico precoce e o controle dos pacientes diabéticos, têm por objeto evitar a acetoadidose e as complicações resultantes da hiperglicemia, mediante o tratamento adequado.

Posto que existem muitos fatores casuais de hiper ou hipoglicemia, devem-se considerar em cada caso a condição fisiológica e a patologia do paciente.

As proteínas glicosiladas (frutosamina) formam-se por enlace covalente entre a glicose e os resíduos lisina das proteínas sanguíneas (principalmente albumina) dando origem a bases de Schiff, as quais, num segundo estágio transformam-se irreversivelmente em cetoaminas (frutosaminas). Esta reação depende da concentração de glicose no sangue e do tempo de interação com as proteínas.

As fructosaminas agem no sangue como "memória glicêmica" até serem metabolizadas de maneira semelhante as outras proteínas do soro. Em consequência, a concentração de fructosamina representa retrospectivamente o índice da variação na concentração da glicose sanguínea durante as duas ou três semanas prévias à extração sanguínea.

### FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O método baseia-se na propriedade do grupo cetoamino das proteínas glicosiladas de reduzir o sal de tetrazólio (NBT) em médio alcalino, a formazán que é medido colorimetricamente a 530 nm. A velocidade de formação do formazán é diretamente proporcional à concentração de fructosamina na amostra.

### REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** solução contendo nitroblue tetrazólio (NBT) 0,25 mmol/l em tampão carbonato 0,2 mol/l.

**S. Padrão\*:** liofilizado contendo proteínas glicosiladas de origem animal, numa concentração entre 200 e 700 umol/l de albumina glicosilada (1,7 - 6,1 mmol/l de DMF, desoximorfolinofrutose). A concentração é variável lote a lote, descrita no rótulo.

### REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Água bidestilada ou deionizada.

### INSTRUÇÕES DE USO

**Reagente A:** pronto para uso.

**Padrão:** reconstituir com 1 ml de água destilada medida exatamente com micropipeta de precisão ou pipeta vo-

lumétrica. Tampar e misturar suavemente por inversão. Não agitar. Deixar repousar uns 60 minutos a temperatura ambiente, misturando por inversão ocasionalmente. Datar. Homogeneizar por inversão imediatamente antes de seu uso.

### PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

### ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos:** são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Conservar o Reagente A ao abrigo da luz.

**Padrão reconstituído:** estável por 15 dias sob refrigeração (2-10°C) ou por 45 dias congelado (-20°C) e fracionado.

### AMOSTRA

Soro ou plasma

**a) Coleta:** deve-se obter soro da maneira usual ou plasma com heparina ou EDTA. Vide os VALORES DE REFERÊNCIA.

**b) Substâncias interferentes conhecidas:** as amostras com hemólise visível ou intensa não podem-se usar. Não se observam interferências por triglicerídeos até 10 g/dl, bilirrubina até 20 mg/l, ácido úrico até 150 mg/l nem hemólise ligeira.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**c) Estabilidade e instruções de armazenamento:** as amostras devem ser preferivelmente frescas.

Caso de não se processar na hora, podem-se conservar até 7 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 2 meses congeladas (-20°C).

### MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos ou cubas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Banho de água a 37°C.
- Relógio ou timer.

### CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 530 nm em espectrofotômetro ou

em fotocolorímetro com filtro verde (490 - 530 nm).

- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de reação: 15 minutos
- Volume de amostra: 50 ul
- Volume final de reação: 1,05 ml

Os volumes de Amostra e Reagente podem-se variar proporcionalmente (ex.: 100 ul Amostra + 2 ml Reagente).

#### PROCEDIMENTO

Em dois tubos marcados P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	P	D
<b>Padrão</b>	50 ul	-
<b>Amostra</b>	-	50 ul
<b>Reagente A</b>	1 ml	1 ml

Misturar bem e colocar em banho de água a 37°C. Disparar imediatamente o cronômetro. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão aos 10 minutos ( $P_1$  ou  $D_1$ ) e aos 15 minutos ( $P_2$  ou  $D_2$ ) em espectrofotômetro a 530 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm) zerando o aparelho com água destilada.

#### CÁLCULO DOS RESULTADOS

A diferença de absorbância entre as duas leituras é proporcional à concentração de frutossamina, portanto o cálculo é o seguinte:

frutossamina (umol/l ou mmol/l) =  $(D_2 - D_1) \times f$

$$f = \frac{C^*}{P_2 - P_1}$$

\* Concentração do Padrão em umol/l (albumina glicosilada) ou mmol/l (DMF)

#### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

**Fructosamina Control 2 niveles** da Wiener lab.

#### VALORES DE REFERÊNCIA

205 - 285 umol/l (albumina glicosilada)  
1,9 - 2,9 mmol/l (DMF)

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência levando-se em conta idade, sexo, hábitos alimentares e outros fatores.

Podem-se observar valores diminuídos em pacientes com perda importante de albumina ou em doenças do catabolismo protéico.

Foi demonstrado que os níveis de frutossamina plasmática são levemente inferiores àqueles de frutossamina sérica.

#### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Os redutores diminuem a resposta da cor, entanto os oxidantes coloreiam o Reagente aumentando os Brancos.

É recomendável realizar uma nova calibração semanal

ou cada vez que os valores obtidos estejam fora da faixa aceitável dos controles (Fructosamina Control 2 niveles).

#### DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** processando simultaneamente 20 duplicatas das mesmas amostras, obtiveram-se os seguintes dados:

Nível	C.V.
265 umol/l (2,3 mmol/l)	1,3 %
731 umol/l (6,3 mmol/l)	0,7 %

**b) Linearidade:** a reação é linear até 800 umol/l (7 mmol/l DMF). Para valores superiores, diluir ao 1/2 a solução colorida final com o Reagente e repetir a leitura multiplicando o resultado final por 2.

**c) Recuperação:** acrescentando quantidades conhecidas de frutossamina a diferentes amostras, obteve-se uma recuperação entre 95 e 99,6%.

**d) Sensibilidade analítica:** baseada numa leitura mínima do aparelho de 0,001 D.O., a mínima mudança de concentração detectável nessas condições será aproximadamente 35 umol/l de albumina glicosilada.

#### PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para as instruções de programação deve-se consultar o manual de uso do analisador a utilizar.

#### APRESENTAÇÃO

- 1 x 37 ml (Cód. 1008137)\*.
- 2 x 50 ml (Cód. 1400050).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009281).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009381).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009615).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009923).

#### REFERÊNCIAS

- Ambruster, D.A. - Clin. Chem. 33/12:2153 (1987).
- Baker, J.R. - Clin. Chem. 31/9:1550 (1985).
- Scheicher, E.D. and Vogt, B.W. - Clin. Chem. 36/1:136 (1990).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# Fructosamina

AA

Colorimetric method (NBT) for fructosamine determination in serum or plasma

## SUMMARY

Diabetes mellitus is the pathology most commonly related to carbohydrates metabolism. Early diagnosis and the periodic check of diabetic patients are aimed to prevent both ketoacidosis as well as complications of the symptoms coming from hyperglycemia, by means of a proper therapy. Due to the existence of many causative factors of hypo- or hyperglycemia, physiological conditions and specific pathological features should be individually considered for each patient.

Glycated proteins (fructosamine) are formed by covalent link of glucose with lysine residues from blood proteins (albumin mainly), forming Schiff bases, followed by an irreversible transformation to ketoamines (fructosamine).

This reaction depends on the blood glucose concentration and the protein interaction time. Fructosamines stay in blood acting as "glycemic memory" until their metabolization, analog to that of with the other serum proteins. As a result, fructosamine concentration retrospectively reflects the average blood glucose concentration, two or three weeks before the test is performed.

## PRINCIPLE

The method is based on the ability of the ketoamine group of glycated proteins to reduce tetrazolium salt (NBT) to formazan in alkaline medium. The formazan is photocolorimetrically measured at 530 nm. Its rate formation is proportional to the fructosamine concentration in sample.

## PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A:** 0.25 mmol/l nitroblue tetrazolium (NBT) solution in 0.2 mol/l carbonate buffer.

**S. Standard\*:** lyophilized serum containing a fructosamine concentration between 200-700  $\mu\text{mol/l}$  of glycated albumin (1.7-6.1 mmol/l DMF, deoximorpholinofructose). The concentration, that is lot specific, is given on the label.

## NON-PROVIDED REAGENTS

Bidistilled or deionized water.

## INSTRUCTIONS FOR USE

**Reagent A:** ready to use.

**Standard:** reconstitute with 1 ml distilled water measured with precision micropipette or pipette with double calibration mark. Cap and mix gently by inversion. Do not shake. Let stand for 60 minutes at room temperature, sporadically mixing by inversion. Date. Homogenize by inversion before use.

## WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

## STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagents:** stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Store the Reagent A avoiding light exposure.

**Reconstituted Standard:** stable for 15 days in refrigerator (2-10°C) or for 45 days frozen (-20°C) and aliquoted.

## SAMPLE

Serum or plasma.

**a) Collection:** obtain serum in the usual way or plasma with heparin or EDTA. See REFERENCE VALUES.

**b) Known Interfering Substances:** samples with visible or intense hemolysis should not be used. No interferences are observed from triglycerides up to 10 g/dl, bilirubin up to 20 mg/l, uric acid up to 150 mg/l and mild hemolysis. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

**c) Stability and Storage instructions:** samples should be preferably fresh. In case the test cannot be performed on the same day, the samples may be stored for 7 days in refrigerator (2-10°C) or 2 months frozen (-20°C).

## REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer or photocolorimeter.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Tubes or spectrophotometric square cuvettes.
- Water bath at 37°C.
- Stopwatch.

## ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 530 nm in spectrophotometer or in photocolorimeter with green filter (490 - 530 nm)
- Reaction temperature: 37°C
- Reaction time: 15 minutes
- Sample volume: 50  $\mu\text{l}$
- Final reaction volume: 1.05 ml

Sample and Reagent A volumes can be proportionally changed (e.g. 100  $\mu\text{l}$  Sample + 2 ml Reagent A)

## PROCEDURE

In two test tubes labeled S (Standard) and U (Unknown) place:

\* Non-provided with all kit sizes

	S	U
<b>Standard</b>	50 ul	-
<b>Sample</b>	-	50 ul
<b>Reagent A</b>	1 ml	1 ml

Mix thoroughly and place in water bath at 37°C. Immediately start stopwatch. Read Sample and Standard absorbances after 10 minutes ( $S_1$  or  $U_1$ ) and after 15 minutes ( $S_2$  or  $U_2$ ) in spectrophotometer at 530 nm or in photocolormeter with green filter (490-530 nm), setting the instrument to zero with distilled water.

Reagent and repeat reading multiplying the final result by 2.  
**c) Recovery:** a recovery between 95 and 99.6% was obtained adding known quantities of fructosamine to different samples.

**d) Analytical sensitivity:** based on an instrument minimal reading of 0.001 O.D. minimum detectable change in concentration under those conditions will be of approximately 35 umol/l.

#### PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user's manual of the autoanalyzer in use.

#### WIENER LAB PROVIDES

- 1 x 37 ml (Cat. N° 1008137)\*.
- 2 x 50 ml (Cat. Nr. 1400050).
- 4 x 20 ml (Cat. Nr. 1009281).
- 4 x 20 ml (Cat. Nr. 1009381).
- 4 x 20 ml (Cat. Nr. 1009615).
- 4 x 20 ml (Cat. Nr. 1009923).

#### REFERENCES

- Ambruster, D.A. - Clin. Chem 33/12:2153 (1987).
- Baker, J.R. - Clin. Chem. 31/9:1550 (1985).
- Scheicher, E.D. and Vogt, B.W. - Clin. Chem. 36/1:136 (1990).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

#### CALCULATIONS

The absorbance difference between both readings is proportional to the fructosamine concentration. Thus, the calculation is the following:

Fructosamine (umol/l or mmol/l) = ( $U_2 - U_1$ ) x f

$$f = \frac{C^*}{S_2 - S_1}$$

\*Standard concentration in umol/l (glycated albumin) or mmol/l (DMF)

#### QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab.'s **Fructosamina Control 2 niveles**.

#### REFERENCE VALUES

205-285 umol/l (glycated albumin)

1.9-2.9 mmol/l (DMF)

It is recommended that each laboratory establishes its own intervals and reference values according to age, sex, dietary habits and other factors.

Decreased values may be observed in patients with considerable albumin loss or protein catabolism diseases.

Plasmatic fructosamine levels are slightly lower than serum fructosamine levels.

#### PROCEDURE LIMITATIONS

See Known Interfering Substances under SAMPLE.

Reducing agents decrease color response, while oxidizing agents color the Reagent increasing the Blanks.

It is recommended to perform one weekly recalibration or each time values outside the control's acceptable range are obtained (Fructosamina Control 2 niveles).

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** when 20 replicates of the same samples were assayed on the same day, the following results were obtained:

Level	C.V.
265 umol/l (2.3 mmol/l)	1.3 %
731 umol/l (6.3 mmol/l)	0.7 %

**b) Linearity:** reaction is linear up to 800 umol/l (7 mmol/l DMF). For higher values, dilute 1/2 final colored solution with





# Fructosamina

## AA

Kolorymetryczna metoda do oznaczania fruktozaminy  
w surowicy krwi i osoczu

Nr kat. 1400050 Nr kat. 1009615  
Nr kat. 1009281 Nr kat. 1009923  
Nr kat. 1009381 Nr kat. 1008137

### WSTĘP

Patologia cukrzycy głównie odnosi się do metabolizmu węglowodanów. Wczesna diagnoza i okresowe badania oraz prawidłowe leczenie pacjentów z cukrzycą mają zapobiegać zarówno kwasicy ketonowej jak i powikłaniom związanym z hyperglikemią. Każdy pacjent powinien zostać zaopatrzony indywidualnie ze względu na obecność wielu czynników prowadzących do hyper- i hypoglikemii, w różnych stanach klinicznych o zróżnicowanych patomechanizmach.

Glikowane białka (fruktozamina) powstają przez wiązanie kowalencyjne między glukozą a lizyną obecną w białkach krwi (głównie albuminie) jako zasady Schiff'a z następującą nieodwracalną przemianą do ketoamin (fruktozamina).

Reakcja ta zależna jest od stężenia glukozy we krwi oraz czasu reakcji z białkami. Fruktozaminy pozostają we krwi jako "pamięć glikemii" do czasu gdy ulegną rozkładowi w przemianach metabolicznych razem z innymi białkami surowicy krwi. W związku z tym stężenie fruktozaminy odzwierciedla średni poziom glukozy we krwi na dwa do trzech tygodni przed wykonaniem badania.

### ZASADA DZIAŁANIA

Metoda oparta jest na zdolności grupy ketoaminowej glikowanych białek do redukcji chlorku tetrazolium (Nitroblue tetrazolium chloride - NBT) do formazanu w środowisku zasadowym. Następnie dokonuje się pomiaru formazanu fotokolorymetrycznie przy długości fali 530 nm. Wskaźnik powstawania formazanu jest proporcjonalny do stężenia fruktozaminy w materiale badanym.

### DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** 0,25 mmol/l roztwór chlorku tetrazolium (NBT) 0,2 mol/l w buforze węglanowym.

**S. Próba wzorcowa\*:** liofilizowana surowica zawierająca fruktozaminę w stężeniu pomiędzy 200-700 umol/l glikowanej albuminy (1,7-6,1 mmol/l DMF, deoksymorfolinofruktozy). Stężenie zależy od serii i jest podane na opakowaniu.

### NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

Podwójnie destylowana lub dejonizowana woda.

### INSTRUKCJA UŻYCIA

**Odczynnik A:** gotowy do zastosowania.

**Próba wzorcowa:** rozpuścić 1 ml destylowanej wody odmierzając precyzyjnie mikropipetą lub pipetą o podwójnej kalibracji. Zamknąć i zamieszać przez odwrócenie. Nie wstrząsać. Pozostawić na 60 min. w temp. pokojowej od czasu do czasu mieszając przez odwrócenie. Homogenizować przez odwrócenie przed użyciem.

### OSTRZEŻENIA

Odczynniki do zastosowania in vitro.

Używać odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z obowiązującymi przepisami lokalnymi.

### TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

**Dostarczane odczynniki:** trwałe w lodówce w temp. 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Odczynnik A chronić przed światłem.

**Rozpuszczona Próba wzorcowa:** trwała w lodówce (w temp. 2-10°C) przez 15 dni lub 45 dni zamrożona (-20°C), należy podzielić na równe części do kolejnych próbek.

### MATERIAŁ BADANY

Surowica lub osocze.

**a) Pobranie:** pobrać surowicę w klasyczny sposób lub osocze na heparynę lub EDTA. Zobacz WARTOŚCI REFERENCYJNE.

**b) Znane interakcje:** materiał badany z widoczną i nasiloną hemolizą nie powinien być użyty do badania. Nie obserwowano interakcji z trójglicerydami do wartości 10 g/dl, bilirubiną do 20 mg/l, kwasem moczowym do 150 mg/l i niewielką hemolizą.

Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

**d) Trwałość i instrukcja przechowywania:** materiał powinien być świeży. Jeśli test nie może być wykonany tego samego dnia, materiał należy przechowywać w lodówce w temperaturze (2-10°C) przez 7 dni lub zamrożony w temperaturze (-20°C) do 2 miesięcy.

### WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr, fotokolorymetr.
- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości.
- Probówki lub kwadratowe kuwety do spektrofotometru.
- Łażnia wodna 37°C.
- Stoper.

### WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 530 nm w spektrofotometrze lub fotokolorymetrze z zielonym filtrem (490-530 nm).
- Temperatura reakcji: 37°C.
- Czas reakcji: 15 minut.
- Objętość materiału: 50 ul
- Końcowa objętość reakcji: 1,05 ml
- Należy zmieniać proporcjonalnie objętości Materiału i Odczynnika A (np. 100 ul Materiału + 2 ml Odczynnika A).

## PROCEDURA

W dwóch próbkach oznaczonych S (Próba wzorcowa) i U (Próba nieznaną)

	S	U
<b>Próba wzorcowa</b>	50 ul	-
<b>Materiał badany</b>	-	50 ul
<b>Odczynnik A</b>	1 ml	1 ml

Wymieszać dokładnie i umieścić w łaźni wodnej w temperaturze 37°C. Natychmiast włączając stoper. Odczytać absorbancję Materiału i Próbkę wzorcowej po 10 minutach ( $S_1$  lub  $U_1$ ) i po 15 minutach ( $S_2$  lub  $U_2$ ) w spektrofotometrze przy długości fali 530 nm lub fotokolorymetrze z zielonym filtrem przy długości fali (490-530 nm), aparat ustawić na zero na wodzie destylowanej.

## OBLICZENIA

Różnica pomiędzy powyższymi odczytami absorbancji jest proporcjonalna do stężenia fruktozoaminy. Stąd wynikają następujące obliczenia:

Fruktozoamina (umol/l lub mmol/l) =  $(U_2 - U_1) \times f$

$$f = \frac{C^*}{S_2 - S_1}$$

\*Stężenie Próby wzorcowej w  $\mu\text{mol/l}$  (glikowana albumina) lub  $\text{mmol/l}$  (DMF)

## METODA KONTROLI JAKOŚCI

Wiener lab.'s Fructosamina Control 2 niveles.

## WARTOŚCI REFERENCYJNE

205 - 285  $\mu\text{mol/l}$  (glikowana albumina)

1,9 - 2,9  $\text{mmol/l}$  (DMF)

Zaleca się aby każde laboratorium ustaliło własne zakresy i wartości referencyjne z uwzględnieniem wieku, płci, sposobu żywienia i innych czynników.

Zmniejszone wartości mogą być obserwowane u pacjentów podejrzeniem utraty albumin lub w chorobach katabolizmu białek. Osoczowy poziom fruktozoaminy jest nieznacznie niższy niż poziom fruktozoaminy w surowicy.

## OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz ZNANE INTERAKCJE w rozdziale MATERIAŁ.

Czynniki redukujące zmniejszają odpowiedź barwną, natomiast czynniki utleniające kolorują Odczynnik zwiększając odczyty Próby ślepej. Zaleca się cotygodniową rekaliibrację lub za każdym razem gdy wartości otrzymane wykraczają poza zakres dla Próby kontrolnej (Fructosamina Control 2 niveles).

## CHARAKTERYSTYKA TESTU

**a) Powtarzalność:** przy 20 powtórzeniach analizy tego samego materiału badanego w tym samym dniu, uzyskano następujące wyniki:

Poziom	C.V.
265 $\mu\text{mol/l}$ (2,3 $\text{mmol/l}$ )	1,3 %
731 $\mu\text{mol/l}$ (6,3 $\text{mmol/l}$ )	0,7 %

**b) Linijność:** reakcja jest linijna do poziomu 800  $\mu\text{mol/l}$  (7  $\text{mmol/l}$  DMF). Przy wyższych wartościach należy rozcieńczyć ½ końcowego roztworu barwnego z odczynnikiem i ponownie odczyty, ostateczny wynik pomnożyć przez 2.

**c) Odzyskiwanie:** otrzymano odzysk pomiędzy 95 i 99,6% po dodaniu znanych wartości fruktozoaminy do różnych próbek.

**d) Czulość analityczna:** w oparciu o minimalny odczyt aparatu 0,001 O.D. najmniejsza oznaczalna zmiana stężenia wynosi około 35  $\mu\text{mol/l}$ .

## PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi urządzenia w celu programowania analizatorów automatycznych.

## WIENER LAB DOSTARCZA

- 1 x 37 ml (Nr kat. 1008137).
- 2 x 50 ml (Nr kat. 1400050).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009281).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009381).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009615).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009923).


## ŹRÓDŁA


- Ambruster, D.A. - Clin. Chem. 33/12:2153 (1987).
- Baker, J.R. - Clin. Chem. 31/9:1550 (1985).
- Scheicher, E.D. and Vogt, B.W. - Clin. Chem. 36/1:136 (1990).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.





## SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrąca

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca


 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator

 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
PM-1102-201



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina