



Glicemia

enzimática AA

Para a determinação de glicose em soro, plasma, urina ou líquido cefalorraquidiano

SIGNIFICADO CLÍNICO

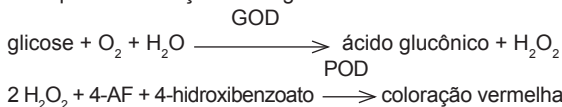
A patologia mais frequente relacionada com o metabolismo dos hidratos de carbono é a diabetes mellitus.

O diagnóstico precoce e o controle dos pacientes diabéticos, têm por objeto evitar a acetoacidose e as complicações resultantes da hiperglicemia, pelo 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.

FUNDAMENTO DO MÉTODO

O esquema da reação é o seguinte:



REAGENTES FORNECIDOS

S. Padrão: solução glicose 100 mg/dl (1 g/l).

A. Reagente A: frasco contendo glicose oxidase (GOD), peroxidase (POD) e 4-aminofenazona (4-AF).

B. Reagente B: tampão fosfatos pH 7,0 contendo 4-hidroxibenzoato.

Concentrações finais

GOD (microbiana)	≥ 10 k U/l
POD (rábano)	≥ 1 k U/l
4-AF	0,5 mmol/l
Fosfatos	100 mmol/l, pH 7,0
4-Hidroxibenzoato	12 mmol/l

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Calibrador A plus da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Padrão: pronto para uso.

Reagente de Trabalho: dissolver o conteúdo do frasco de Reagente A com uma parte do Reagente B. Logo após, colocá-lo dentro do frasco de Reagente B, lavando o recipiente várias vezes com a mesma preparação. Misturar até dissolução completa. Homogeneizar e datar.

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: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não manter a temperaturas elevadas por períodos prolongados.

Reagente de Trabalho: estável sob refrigeração (2-10°C) por 60 dias a contar da data de sua preparação.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Durante o uso, o Reagente de Trabalho pode desenvolver uma leve cor rosa, o que não altera seu funcionamento desde que seja processado um Branco em cada lote de determinação e um Padrão pelo menos uma vez por semana. Descartar os reagentes quando as leituras do Branco estejam acima de 0,160 D.O.

AMOSTRA

Soro, plasma, urina ou líquido cefalorraquidiano (LCR)

a) Coleta:

- Soro ou plasma: coletar soro da maneira habitual ou plasma obtido com anticoagulantes usuais.

- Urina: para uma amostra isolada, utilizar preferivelmente urina recém coletada. Caso de não seja realizado o ensaio na hora, conservar a amostra sob refrigeração (2-10°C). O ensaio pode ser realizado em urina de 24 horas. Neste caso, coletar a amostra em um recipiente escuro que contenha 5 ml de ácido acético glacial e conservá-lo em gelo.

- LCR: caso seja utilizado LCR, o ensaio deve ser realizado imediatamente após a coleta da amostra.

b) Aditivos: se a amostra a utilizar for plasma, recomenda-se o uso de heparina ou **Anticoagulante G** (EDTA/fluoreto), para sua obtenção.

c) Substâncias Interferentes conhecidas: não se observam interferências por bilirrubina até 10 mg/dl, triglicérides até 500 mg/dl, nem hemoglobina até 350 mg/dl. O ácido ascórbico interfere na determinação em urina em qualquer concentração.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a destruição enzimática da glicose sanguínea (glicólise) por hemácias e leucócitos é proporcional à temperatura na qual o sangue é conservado, até o máximo de 37°C. Contudo, este processo não se inibe em estado de congelamento, razão pela qual deve ser centrifugado o sangue até duas horas após sua extração. O sobrenadante límpido deve ser transferido a outro tubo para sua conservação. Nestas con-

dições a glicose é estável 4 horas a temperatura ambiente ou 24 horas sob refrigeração (2-10°C). Caso de não ser possível processar a amostra na forma indicada, deve ser acrescentado um conservante na hora da extração.

O LCR pode ser contaminado com bactérias e outras células, logo a determinação deve ser realizada de imediato. Caso não seja processado na forma indicada, centrifugar o LCR e conservá-lo por até 3 dias a 2-10°C ou 5 horas a 20-25°C.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Micropipeta e pipetas capazes de medir dos volumes indicados.
- Tubo ou cubas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Banho-maria 37°C.
- Relógio ou timer.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 505 nm em espectrofotômetro ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm).
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de reação: 5 minutos
- Volume de amostra: 10 ul
- Volume de Reagente de Trabalho: 1 ml
- Volume final de reação: 1,01 ml

Os volumes de Amostra e Reagente podem variar-se proporcionalmente (Ex.: 20 ul Amostra + 2 ml Reagente de Trabalho).

PROCEDIMENTO

Em três tubos marcados B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Padrão	-	10 ul	-
Amostra	-	-	10 ul
Reagente de Trabalho	1 ml	1 ml	1 ml

Colocar em banho-maria durante 5 minutos a 37°C ou 25 minutos a 15-25°C. Logo após ler no espectrofotômetro a 505 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm) levando o aparelho a zero com o Branco.

ESTABILIDADE DA MISTURA DA REAÇÃO FINAL

A cor da reação final é estável 30 minutos. Ler a absorbância durante este período.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

$$\text{glicose (mg/dl)} = D \times f \quad f = \frac{100 \text{ mg/dl}}{P}$$

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de glicose, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Analisaram-se com **Glicemia enzimática AA**, 120 amostras provenientes de indivíduos em jejum, pertencentes a ambos sexos, com idades entre 20 e 45 anos, habitantes da cidade de Rosario (Argentina), sem sintomas de diabetes ou outras doenças. Encontrou-se que o 95% dos resultados cobriram a seguinte faixa:

Soro ou plasma: 70 - 110 mg/dl

A literatura (Tietz, N.W.) faz menção da seguinte faixa de referência:

Soro ou plasma

Adultos: 74 - 106 mg/dl

Crianças: 60 - 100 mg/dl (3,33 - 5,55 mmol/l)

Neonatos: 1 dia: 40 - 60 mg/dl (2,22 - 3,33 mmol/l)

> 1 dia: 50 - 80 mg/dl (2,78 - 4,44 mmol/l)

Urina isolada recém coletada:

1 - 15 mg/dl (0,06 - 0,83 mmol/l)

Urina de 24 horas:

< 0,5 g/24 horas (< 2,78 mmol/24 horas)

LCR

Crianças: 60 - 80 mg/dl (3,33 - 4,44 mmol/l)

Adultos: 40 - 70 mg/dl (2,22 - 3,89 mmol/l)

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência, considerando sexo, idade, hábitos alimentares e outros fatores.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Glicose (mg/dl) x 0,0555 = Glicose (mmol/l)

Glicose (g/24 horas) x 55,5 = Glicose (mmol/24 horas)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

DESEMPENHO

Os ensaios foram realizados no analisador automático Express Plus^(*).

a) Reprodutibilidade: processando duplicatas das mesmas amostras em 5 dias diferentes, obtivera-se:

Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
90,7 mg/dl	± 1,26 mg/dl	1,39 %
278 mg/dl	± 3,08 mg/dl	1,11 %

Precisão inter-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
90,1 mg/dl	± 1,73 mg/dl	1,92 %
299 mg/dl	± 4,86 mg/dl	1,62 %

b) Recuperação: agregando quantidades conhecidas de glicose a diferentes soros, obteve-se uma recuperação entre 99 e 101%.

c) Linearidade: a reação é linear até 500 mg/dl. Em valores superiores, diluir a amostra com solução salina e repetir o ensaio, multiplicando o resultado final pelo fator de diluição.

d) Correlação: determinou-se o valor de glicose em 154 amostras de soro numa faixa compreendida entre 23 e 503 mg/dl, com **Glicemia enzimática AA** da Wiener lab. e um kit comercial

baseado no mesmo princípio, obtendo-se o seguinte coeficiente de correlação:

$r = 0,9997$; $\text{pendente } b = 1,0257$; $\text{interseção } a = 1,9485$

e) Sensibilidade: o mínimo limite de detecção é $0,54 \text{ mg/dl}$ e a sensibilidade analítica é de $4,2 \text{ mg/dl}$.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração, pode-se utilizar **Calibrador A plus** da Wiener lab., conforme os requerimentos do analisador.

APRESENTAÇÃO

- 1 x 250 ml (Cód. 1400106).

- 4 x 250 ml (Cód. 1400107).

REFERÊNCIAS

- Henry, R.J. et al. - Clinical Chemistry, Principles and Techniques, 2nd. ed., Harper and Row Publishers Inc. N.Y. p. 1288 (1974).

- Lott, J.A. and Turner, K. - Clin. Chem. 21:1754-1760 (1975).

- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem. 6/24 (1969).

- Ziegenhorn, J. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15/1:13 (1977).


- Caraway - Stand. Meth. Clin. Chem. 4:240 (1963).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

- Burtis - Ashwood. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., fifth edition, United States of America, 2001.


SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.


 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para $<n>$ testes


 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico

 Volume após da reconstituição

 Conteúdo


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina