



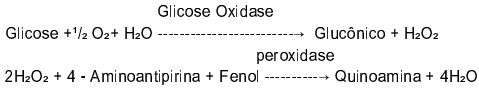
QUIMIGLIX-OX - Glicose Oxidase Oxidase

Finalidade:

Reação enzimática para determinação de glicose em amostras de soro, plasma, líquor e urina humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

Os métodos enzimáticos proporcionam uma especificidade máxima para as determinações da glicose. A glicose pode ser determinada por sua reação com a glicose oxidase, na qual são gerados o ácido gluconônico e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂). O peróxido de hidrogênio então reage com um aceptor de oxigênio, como o fenol ou outros aceptores de oxigênio cromogênicos, numa reação catalisada pela peroxidase para formar uma cor:



Metodologia:

Oxidase

Significado Clínico:

Valores elevados de glicose ocorrem nos vários tipos de diabetes primárias, nos estados de intolerância à glicose e nos diabetes secundários, à várias doenças como hiperpituitarismo, síndrome de Cushing, feocromocitoma, doença de Von Gierke (hiperglicemia pós-prandial), traumatismos cranianos, tumores cerebrais, acidentes vasculares cerebrais, hiperglicemia fisiológica (excitação psíquica, esforço muscular), hiperglicemia de urgência (choque, asfixia, intervenções cirúrgicas). A hipoglicemia é vista em pan-hipopituitarismo, insuficiência córtico-supra-renal aguda, doença de Addison, doença de Von Gierke (hipoglicemia em jejum), galactosemia, frutosemia, sensibilidade à leucina, adenoma das ilhotas de Langerhans, hepatopatias graves, desnutrição, hipoglicemia funcional (reativa, espontânea, neurogênica).

Reagentes:

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém Fosfato 40mmol/L, fenol 5mmol/L, glicose oxidase > 10U/mL, peroxidase > 1 U/mL e 4-aminoantipirina 0,4mmol/L; cor: incolor ou levemente rosa; pH 7,5.

Padrão (cód 3034): Conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa com concentração de glicose rastreável pelo Padrão Primário Internacional NIST 917b. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. E e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para uso de diagnóstico "in vitro".

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. O desenvolvimento de discreta coloração "rosada" no reagente de Glicose oxidase poderá ser observado e demonstra uma simples acomodação óptica do sistema cromogênico do reagente e não interfere em nenhuma hipótese na performance cinética ou na alteração de sensibilidade e linearidade da reação.

Não usar se a absorbância do branco ultrapassar 0.150 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido a 505 nm, se o reagente apresentar-se turvo ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 505 nm (490 - 510nm).
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Calibradores e soros controle.
- Medidor de tempo.

Amostra:

Soro ou plasma (fluoreto): A glicose é estável no soro por 3 dias de 2 a 8°C ou 2 meses a -20°C. Centrifugar até no máximo uma hora após a coleta para evitar glicólise.

Líquor: Utilizar o sobrenadante da amostra centrifugada e realizar a

dosagem imediatamente após a coleta. Se o atraso na dosagem for inevitável a amostra deve ser centrifugada (3000rpm) e o sobrenadante deve ser separado e armazenado de 2 a 8°C por no máximo 24 horas.

Urina: A amostra deve ser colhida no período de 24 horas, mantendo-a armazenada em frasco fechado de 2 a 8°C. A glicose é estável na urina por no máximo 6 horas. Utilizar o sobrenadante da amostra centrifugada para realizar a dosagem. Quando necessário, a urina deverá ser diluída para se obter resultado dentro do intervalo operacional do método.

Todas as amostras são consideradas potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 12 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

Interferências:

Hemoglobina até 0,2g/dL, bilirrubina até 40 mg/dL, ácido ascórbico até 5 mg/dL e lipemia até 400 mg/dL, medido como triglicérides, não interferem significativamente (+/- 10%) nos resultados. Os anticoagulantes como citrato, EDTA, Heparina e oxalato interferem na reação, podendo produzir resultados falsamente diminuídos.

Um número de drogas e substâncias afetam a concentração da glicose, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 505 nm (490 - 510nm)
Tipo de Reação: Ponto final
Direção: Crescente
Relação Amostra/Reativo: 1:100
Vol. Amostra: 10 µL
Vol. Reagente: 1,0 mL
Tempo de Incubação: 10 minutos

Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram ou o padrão que acompanha o kit do cód 3034.

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente. Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Procedimento Manual:

- Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	10µl	-	-
Padrão	-	10µl	-
Amostra/S.C.	-	-	10µl
Reagente	1,0ml	1,0ml	1,0ml

- Homogeneizar os tubos e deixar em Banh-Maria (BM) 37°C por 10 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

- Zerar o aparelho com o branco do reagente a 505 nm (490 - 510nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0.01 mL(10 µL) de amostra a 1,0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorbância contra água. Subtraia este valor da absorbância do paciente para obter a leitura corrigida.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

(Abs. = Absorbância)
(Conc. = Concentração)

$$\text{Glicose da Amostra (mg/dL)} = \frac{\text{Abs. Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \frac{\text{Conc. do Padrão (mg/dL)}}{100}$$

Cálculo para urina de 24 horas:
Glicose na urina (mg/24 horas) = mg/dL x volume urinário (em mL)

Exemplo:

Abs. Amostra = 0.30
Abs. Padrão = 0.40
Conc. Padrão: 100 mg/dL.
0.30
Glicose Amostra = ----- x 100
0.40
Glicose Amostra = 75 mg/dL

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 400 mg/dL. Amostras com valores superiores a 400 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0,307 e 400 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados:

Soro ou plasma:
70 - 99 mg/dL.....Glicemia de jejum normal
100 - 125 mg/dL....Glicemia de jejum alterada
≥ 126 mg/dL.....Provável Diabetes Mellitus

Líquor: 40 - 75 mg/dL
Urina: ≤ 20 mg/dL ou ≤ 250 mg/24 horas

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio range de referência.

Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): mmol/L

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados estatísticos:

Número de Amostras:	40
Intervalo dos resultados	50 - 430
Coefficiente de Correlação:	0,999
Inclinação:	0,98
Intercepta:	4,6 (mg/dL)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=20	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	88	326
C.V. (%)	1,2	0,9

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=25	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	88	326
C.V. (%)	2,7	1,9

Sensibilidade Metodológica:

0,307 mg/dL

Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Observações:

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL + 1 x 1,0mL
Linha Hitachi 917: 3 x 65mL
Linha Bulk: 1 x 500mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

Referência Bibliográfica:

- Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-27.
- Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
- National Diabets Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 1979; 28:1039-1057.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AAC Press, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AAC Press, 1997.
- Arquivos da EBRAM.

