Finalidade

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:

$$\begin{array}{c} \text{GOD} \\ \text{glicose} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} & \longrightarrow & \text{ácido glucônico} + \text{H}_2\text{O}_2 \\ \text{POD} \\ \text{2 H}_3\text{O}_2 + \text{4-AF} + \text{4-hidroxibenzoato} & \longrightarrow & \text{coloração vermelha} \\ \end{array}$$

Reagentes fornecidos

S. Padrão: solução de glicose 100 mg/dL (1 g/L).

A. Reagente A: solução contendo glicose oxidase (GOD), peroxidase (POD), 4-aminofenazona (4-AAT), tampão fosfatos pH 7,5 e fenol nas seguintes concentrações:

GOD	≥ 15 kU/L
POD	≥ 2 kU/L
4-AAT	
Fosfatos	250 mmol/L, pH 7,5
Fenol	5 mmol/L

Reagentes não fornecidos

Laborcal da Laborlab.

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para 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 a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não manter a temperaturas elevadas por períodos prolongados.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Durante o uso, o Reagente A pode desenvolver uma leve cor, o que não altera seu funcionamento desde que seja processado um Branco em cada lote de determinação e um Padrão periodicamente. Descartar os reagentes quando as leituras do Branco estiverem 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 não seja realizado o ensaio na hora, conservar a amostra sob refrigeração (2-8°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 EDTA/ fluoreto como anticoagulante, para sua obtenção.
- c) 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-se centrifugar o sangue até 2 horas após sua extração. O sobrenadante límpido deve ser transferido a outro tubo para sua conservação. Nestas condições a glicose é estável 4 horas a temperatura ambiente ou 24 horas sob refrigeração (2-8°C). Caso não seja 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 2-8°C ou 5 horas a 20-25°C.

Interferências

Não são observadas interferências por: bilirrubina até 10 mg/dL, triglicerídeos 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.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Micropipeta e pipetas para 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 A: 1 mLVolume final de reação: 1,01 mL

Os volumes de Amostra e Reagente A podem variar-se proporcionalmente (Ex.: 20 uL Amostra + 2 mL Reagente A).

Procedimento

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

	В	Р	D
Padrão	-	10 uL	-
Amostra	-	-	10 uL
Reagente A	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

glicose (mg/dL) = D x f
$$f = \frac{100 \text{ mg/dL}}{P}$$

Exemplo:

Absorbância da amostra: 0,238 Absorbância do Padrão: 0,250

Fator =
$$\frac{100 \text{ mg/dL}}{0,250}$$
 = 400

Glicose (mg/dL) = 0,238 x 400 = 95,2 mg/dL

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com concentrações conhecidas de glicose, com cada determinação.

Valores de referência

Analisaram-se com **Glicose GOD-PAP Liquid Stable**, 120 amostras provenientes de indivíduos em jejum, pertencentes a ambos os sexos, com idades entre 20 e 45 anos, 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)

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 "Interferências".

Desempenho

Os ensaios foram realizados no analisador automático Express Plus® (Ciba Corning Diagnostics).

a) Reprodutibilidade: processando 20 duplicatas da mesma amostra em 5 dias diferentes, obteve-se

Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
90,7 mg/dL	\pm 1,26 mg/dL	1,39 %
278 mg/dL	\pm 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 Glicose GOD-PAP Liquid Stable da Laobrlab e um kit comercial baseado no mesmo princípio, obtendo-se o seguinte coeficiente de correlação:
- r = 0,9997; pendente b = 1,0257; interseção a = 1,9485
- e) Sensibilidade: o mínimo limite de detecção é 0,54 mg/dL e a sensibilidade analítica é de 4,2 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 Laborcal da Laborlab, conforme os requerimentos do analisador.

Apresentação

1 x 100 mL Reagente A 1 x 4 mL Padrão (Cód. 1770650).

2 x 250 mL Reagente A 1 x 4 mL Padrão (Cód. 1770130).

Referências

- Henry, R.J. et.al. Clinical Chemistry, Principles and Techniques, 2nd. ed., Harper and Row Pub. 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).
- Young, D.S. "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Ziegenhorn, J.; Newman, U.; Hegen, A. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15/1:13 (1977).
- Caraway Stand. Meth. Clin. Chem. 4:240 (1963).
- Burtis Ashwood. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., fifth edition, United States of America, 2001.

SÍMBOLOS



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

EC REP Representante autorizado na Comunidade Europeia

IVD

Uso médico-diagnóstico "in vitro"

Σ

Conteúdo suficiente para <n> testes

Data de validade

Limite de temperatura (conservar a)

*

Não congelar

Risco biológico

Volume após da reconstituição

Cont.

Conteúdo

LOT

Número de lote

Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso

Calibr.

Calibrado

CONTROL

Controle

CONTROL +

Controle Positivo

CONTROL -

Controle Negativo

REF

Número de catálogo

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.



Produtos para Laboratórios Ltda. Estrada do Capão Bonito, 489 Guarulhos - SP- Brasil - CEP: 07263-010 CNPJ: 72.807.043/0001-94 Atendimento ao cliente: +55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277 sac@laborlab.com.b www.laborlab.com.br