

FRUTOSAMINA

MÉTODO

Cinético-Colorimétrico.

FINALIDADE

Reagentes para determinação da frutossamina (glicoproteínas ou proteínas glicadas) no soro. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Quando a glicose se une às proteínas, o produto final é uma cetoamina estável, denominada genericamente de glicoproteína ou frutossamina. Em pH alcalino, a glicoproteína se transforma na forma enólica, reduzindo o azul de nitrotetrazólio a um "formazan" púrpura. A velocidade de formação do formazan em uma determinada temperatura é proporcional à concentração sérica de proteínas glicadas. O método utiliza a medida da diferença de absorvância após incubação aos 10 e 15 minutos para calcular concentração de glicoproteína ou frutossamina na amostra. Os resultados são expressos em mmol/L de DMF (1-Desoxi-1-morfolinofrutose), utilizado como padrão primário.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Assim como ocorre com a hemoglobina glicada, a frutossamina é decorrente de uma modificação não enzimática pós translacional, dependente dos valores de glicemia. O mesmo ocorre com a glicação de outras proteínas plasmáticas. O mecanismo de formação da proteína glicada é semelhante ao da hemoglobina glicada, havendo somente diferenças na cinética de formação e na meia vida. A meia vida das proteínas varia entre 1 a 3 semanas, ao contrário da hemoglobina cuja meia vida é de 120 dias. É de se esperar, portanto, que, enquanto o valor da hemoglobina glicada reflete o controle de glicemia nos 2 meses anteriores ao teste, a proteína glicada pode espelhar as concentrações de glicose plasmática nos 20 dias anteriores. Frutossamina é um nome genérico dado à todas proteínas glicadas (glicoproteínas), das quais a maior parcela é devida a albumina, que se constitui na maior massa protéica plasmática depois da hemoglobina. A frutossamina está elevada em todos os casos de diabetes sob controle metabólico inadequado e tem sido observado que os valores retornam aos níveis de referência 20 dias após a estabilização da glicemia em níveis adequados. Quando se observa a perda do controle glicêmico, a resposta da frutossamina, com elevação de valores ocorre praticamente concomitante a hiperglicemia, retornando, entretanto, aos valores de referência 3 semanas após a resposta ao tratamento. A frutossamina permite classificar os pacientes diabéticos em 3 grupos distintos: controle satisfatório até 3,2 mmol/L, controle medíocre até 3,7 mmol/L e controle inadequado maior que 3,7 mmol/L. O teste não sofre interferências de medicamentos (com exceção do ácido ascórbico), alimentação, glicemia do momento e não se observam diferenças significativas entre homens e mulheres. Valores diminuídos são observados em pacientes com perdas elevadas de albumina e/ou doenças que aumentam o catabolismo proteico. O teste não deve ser usado para rastreamento de intolerâncias latentes à glicose devido à sua pequena sensibilidade em relação ao teste oral de tolerância à glicose.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 e 8°C.

[RGT] – Reagente de Cor (1) - Contém tampão carbonato pH 10,35 200 mmol/L e azul de nitrotetrazólio (NBT) 250 mmol/L.

[STD] – Padrão (2) - Soro humano liofilizado. A concentração vem indicada no rótulo do frasco, expressa em mmol/L de DMF (desoxi morfolino frutose).

PREPARO DO PADRÃO

Reconstituir o Padrão (2) liofilizado de Frutossamina com 1,0 mL de água deionizada. Agitar suavemente e deixar em repouso por 30 minutos antes de utilizar. A solução, se for mantida ao abrigo da luz, é estável durante 15 dias entre 2-8°C ou por 45 dias se conservado em alíquotas a -20°C.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados em temperatura entre 2-8°C, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

1. A presença de partículas, turbidez e absorvância do Branco em 530nm, acima de 0,065 indicam deterioração do Reagente de Cor (1).
2. Ausência de material liofilizado e umidade indicam deterioração do Padrão.
3. O Padrão (2) e o Reagente de Cor (1) devem ser conservados ao abrigo da luz entre 2-8°C.

TRANSPORTE:

O transporte deve ser realizado em temperaturas entre 2 e 8°C, conforme condições de conservação do produto.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original

PRECAUÇÕES:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Os reagentes são fotosensíveis, conserva-los ao abrigo da luz.
- O Padrão (1) foi testado para anticorpos anti-HCV, anti-HIV e antígeno HBsAg e apresentou resultado negativo. No entanto, deve ser tratado com precaução, como potencialmente infectante. Manusear e descartar segundo as normas de biossegurança.

- Todo o material contaminado deve ser autoclavado por 1 hora a 120°C ou deixado em solução de hipoclorito de sódio a 10% por 1 hora.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Recomendamos o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como avental, óculos de segurança, luvas descartáveis e outros que se fizerem necessários para a realização do teste.
- Não deve ser utilizada a boca para pipetagem de reagentes, amostra ou qualquer outra substância.
- Aconselhamos não pipetar diretamente do frasco do Reagente de Cor (1) para evitar contaminação.
- Em caso de acidentes tomar as medidas cabíveis de primeiros socorros.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Banho-Maria temperatura constante (37°C)
- Pipetas
- Cronômetro

AMOSTRA BIOLÓGICA:

SORO. Não usar amostras hemolisadas.

O analito é estável 7 dias entre 2-8°C ou 2 meses a -20°C.

Amostras fortemente lipêmicas devem ser diluídas 1:2 com NaCl 0,9 g% e o resultado obtido multiplicado por 2.

Se houver suspeita da presença de ácido ascórbico, deixar a amostra em repouso durante 90 minutos antes de iniciar a dosagem.

NOTA: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas em Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

- Equipamento: Espectrofotômetro
- Leitura: Comprimento de onda 530 nm
- Temperatura: 37°C
- Medida: contra água destilada

B. Técnica de Análise

1. Deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes da realização do teste.
2. Pipetar

Tubos	Teste	Padrão
Reagente de Cor (1)	1000 µL	1000 µL
Amostra	50 µL	----
Padrão (2)	----	50 µL

3. Misturar bem. Incubar imediatamente a 37°C. Acionar o cronômetro.
4. Ler as absorvâncias do Teste e do Padrão em 530 nm após exatamente 10 minutos, acertando o Zero com água destilada (A₁₀).
5. Continuar a incubação por exatamente mais 5 minutos e determinar as absorvâncias do Teste e do Padrão contra água destilada (A₁₅).

C. Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

Calcular as diferenças de absorvâncias do Teste e do Padrão: $\Delta A = A_{15} - A_{10}$ Cp = Concentração do padrão indicada no rótulo do frasco

Exemplo

At = Absorvância do Teste

Ap = Absorvância do Padrão

Cp = Concentração do Padrão em uso = 2,3 mmol/L

Absorvâncias do Teste: A₁₀ = 0,301 A₁₅ = 0,387

ΔA do Teste = 0,387 - 0,301 = 0,086

Absorvâncias do Padrão: A₁₀ = 0,319 A₁₅ = 0,420

ΔA do Padrão = 0,420 - 0,319 = 0,101

Frutossamina (mmol/L) = FC x ΔA do Teste Frutossamina = 22,77 x 0,086 = 1,96 mmol/L em DMF.

$$Fc = \frac{Cp}{\Delta A \text{ Padrão}} = \frac{2,3}{0,101} = 22,77$$

Atenção

- Esta técnica de dosagem é adequada para fotômetros cujo volume mínimo de solução para a leitura é igual ou menor do que 1000 µL.
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos. Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

VALOR DE REFERÊNCIA:

Soro

- 1,9 a 2,9 mmol/L em DMF
- 205 a 285 µmol/L em albumina glicada

REV. 06/24

InVitro

Para converter os resultados de mmol/L de DMF para µmol/L de albumina glicada, multiplicar os resultados por 121. Exemplo: 1,96 (mmol/L de DMF) x 121 = 237 (µmol/L de albumina glicada).

Os valores de referência de frutossamina dependem da concentração de albumina na amostra. Em crianças, as concentrações são ligeiramente inferiores (5%). Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores pode ser fornecida quando solicitada.

CALIBRAÇÃO:

Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida.

A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:

- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados para o método cinético-colorimétrico para a frutossamina pode ser empregado.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Linearidade:

A reação é linear até 7,0 mmol/L de DMF (800 µmol/L de albumina glicada). Para valores maiores, diluir a amostra a 1/2 com água deionizada e repetir a determinação. Multiplicar o resultado final por 2.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 3,9 mmol/L e 5,7 mmol/L. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,7 e 2,5%, respectivamente.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 3,9 mmol/L e 5,7 mmol/L. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 4,3 e 4,0%, respectivamente.

Limite de Detecção

LD = 0,14 mmol/L de DMF ou 16 µmol/L de albumina glicada.

O intervalo de medida é de 0,14 mmol/L até 7,0 mmol/L de DMF ou de 16 a 800 µmol/L de albumina glicada.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 79 amostras de soro humano com valores desconhecidos. Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com uma equação de regressão linear onde $y = 0,983x + 2$.

Interferências

A bilirrubina até 20 mg/dL, a lipemia (triglicérides até 1000 mg/dL) e a hemólise (hemoglobina até 1000 mg/dL) não interferem. Alguns medicamentos e substâncias podem interferir.

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES
06550-1	RGT STD	1 x 50 mL 1 x 1 mL	50

BIBLIOGRAFIA:

1. Baker JL, et al; Clin Chem 1985;31:1550-1554.
2. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4ª Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
3. Dolhofer R, Wieland OH. FEBS Letters 1979;103:282-286.
4. Hurst PL. Clin Chem 1987; 33:1947
5. Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR. Clin Chim Acta 1982; 127:87-95.
6. Lloyd D, Marples J. Clin Chem 1984;30:1686-1688.
7. San-Gil F, Schier GM, Moses RG, Gan IET. Clin Chem 1985; 31:2005-2006.
8. Smid E, Ferencz A, Fodor M. Clin Chim Acta 1986; 156: 215-220.
9. Van Dieijen-Visser MP et al. Clin Chem 1986; 32:1610.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.

Telefone: **31 3067-6400** e-mail: invitroms@invitro.com.br

Fabricante: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053.

Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460548 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a 2 – 8°C)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação



Liofilizado