Glicose Enzimática - SNIBE

MÉTODO
GOD-PAP
Método Enzimático Colorimétrico sem desproteinização.

FINALIDADE
Reagentes para a determinação quantitativa da glicose em soro e plasma humano. Com LCF (Fator Clareante de Lípides). Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

FUNDAMENTO
A glicose é determinada após a oxidação enzimática na presença de glicose oxidase. O peróxido de hidrogênio formado reage sob catálise da peroxidase com fenol e 4-aminofenazona originando a quinoneimina que é um cromôgeno vermelho-violeta.

Reação Principal:

$$\text{Glicose} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Ácido glucônico} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{4-aminofenazona} + \text{fenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{quinoneimina} + 4\ H_2O$$

SIGNIFICADO CLÍNICO
Um grande número de síndromes e doenças está associado com níveis altos de glicose. Estas são separadas em causas primárias e secundárias. A hiperglicemia pode resultar de uma ausência total de secreção de insulina (pancreatectomia cirúrgica), por infiltração do pâncreas (hemocromatose), ou intermitentemente durante períodos de estresse. A hiperglicemia pode ser secundária a outras doenças endócrinas. Algumas drogas como o propanolol, diuréticos tiazídicos e fenitoína podem bloquear a liberação de insulina e causar hiperglicemia. O Diabetes Mellitus é uma doença crônica caracterizada pelas concentrações anormalmente altas de glicose plasmática, glicosúria e espessamento das membranas capilares basais. Indivíduos com diabetes têm risco de cegueira, doença renal, doença vascular e doença cardíaca. Clinicamente o Diabetes Mellitus é dividido em 2 grupos: o não dependente de insulina e o dependente de insulina. A hipoglicemia é definida como uma síndrome caracterizada pela glicose plasmática baixa e um grupo associado de sintomas que são aliviados pela ingestão de alimentos ou carboidratos. Sendo relacionada com alimentação duas formas podem ser definidas: hipoglicemia do jejum e pós-prandial. As causas mais comuns da hipoglicemia de jejum são: insulinoma, neoplasmas extrapancreáticos, indução por droga (sulfoniluréia), síndrome auto-imune (formação de anticorpos) para receptores da insulina, doença hepática grave e alcoolismo. A hipoglicemia pós-prandial pode ser classificada em: a) hipoglicemia alimentar; b) hipoglicemia funcional; c) hipoglicemia do diabético tipo II e do paciente com intolerância à glicose.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 a 8ºC.

RGT - Reagente Enzimático: Tampão fosfato 80 mmol/L, 4-aminofenazina 0,240 mmol/L, fenol 0,799 mmol/L, glicose oxidase 16 KU, peroxidase 1,6 KU, azida sódica 0,095%.

PAD - Padrão glicose: Glicose anidra 5,5 mmol/L, Ácido tricloroacético 500 mmol/L. Concentração 100 mg/dL.

PREPARO DO REAGENTE DE USO
Os reagentes já se encontram prontos para uso.

ESTABILIDADE
Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenado entre 2 e 8ºC. Se abertos, evitar contaminação. O reagente enzimático é estável por 2 semanas entre 15 e 25ºC, protegido da luz.

TRANSPORTE
O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 10 dias e em uma temperatura de 37ºC e de 5 dias em uma temperatura de 45ºC

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
• Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitem infecções, recomenda-se manuseá-las de acordo com as instruções de biossegurança;
• Se existir evidência de contaminação microbiana ou se observar um aspecto turvo excessivo no produto, descarte-o.
• Usar equipamentos de proteção necessários;
• A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxague deve ser exaustivo sendo o último enxague com água destilada ou deionizada.
• Traços de amônia nos materiais utilizados interferem decisivamente na reação.
• A rigorosa observação da temperatura, do tempo de incubação, da limpeza da vidraria, da estabilidade dos reagentes e da pipetagem é de extrema importância para se obter bons resultados.
• Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos. Remover lentes de contatos, se presentes e for fácil a retirada. Continuar a lavar.
• A FDS (Ficha com Dados de Segurança) encontra-se disponível no site da In Vitro Diagnóstica www.invitro.com.br.
• Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental (Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde – PGRSS).
• 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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra: Soro, Plasma (fluoreto).

Estabilidade das amostras: A glicose é estável por 24 horas entre 2 e 8ºC se o soro e o plasma forem separados dentro de 30 minutos após a coleta.

• O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8ºC) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE

A- Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: 500 nm
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 20-25ºC ou 37ºC
Medida: Contra reagente branco. Somente um reagente branco por série é necessário.

B- Procedimento de teste:

	Macro		Semi micro	
Pipetar nas cubetas	PAD ou amostra	Reagente Branco	PAD ou amostra	Reagente Branco
PAD ou Amostra	20 µL	---	10 µL	----
RGT	2000 µL	2000 µL	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar e incubar 10 minutos a 20-25ºC ou 5 min. a 37ºC. Medir a absorbância da amostra ($\Delta A_{amostra}$) e o padrão (ΔA_{PAD}) contra o reagente branco em no máximo 60 minutos.				

CÁLCULOS

$$C = 100 \times \frac{\Delta A_{amostra}}{\Delta A_{PAD}}\ (mg/dL) \quad \text{ou}$$

$$C = 5{,}55 \times \frac{\Delta A_{amostra}}{\Delta A_{PAD}}\ (mmol/L)$$

Fator de calibração:
Fc = 100 : ΔAPAD
Glicose (mg/dL) = $\Delta A_{amostra}$ x Fc

Exemplo:
Aa = Absorbância da amostra = 0,230
Ap = Absorbância do padrão = 0,299

$$C = 100 \times \frac{\Delta A_{amostra}}{\Delta A_{PAD}}$$

$$C = 100 \times \frac{0{,}230}{0{,}299}$$

C = 76,9 mg/dL
Fator de calibração:
Fc = 100 : 0,299
Fc = 334

Glicose (mg/dL) = $\Delta A_{amostra}$ x Fc

Glicose (mg/dL) = 0,230 x 334

Glicose (mg/dL) = 76,82 mg/dL

CALIBRAÇÃO
Use o Padrão de Glicose PAD que está pronto para uso. O Fator utilizado deve ser verificado regularmente. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. 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.

VALORES DE REFERÊNCIA
Soro, plasma (jejum):
Normal: 70 - 99 mg/dL.
Alterada: 100 – 125 mg/dL
Provável Diabetes Mellitus: ≥ 125 mg/dL
Estes valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle contendo valores determinados para a glicose, pelo método GOD-PAP, pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
O kit Glicose Enzimático é calibrado com Multicalibrador de Bioquímica – Snibe e rastreável para o material de referência NIST SRM 965b.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
O kit da Glicose enzimática foi comparado com reagente de referência do mercado e apresentou excelentes resultados de correlação em ampla faixa de concentração de amostras. A correlação dos resultados apresentou uma equação da reta = 1,008X – 0,9846 com coeficiente de correlação r = 0,9983.
Ambos os métodos mostraram uma boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

Precisão
Repetibilidade:

Amostra	N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
Baixa	25	94,8	1,26	1,33
Média	25	101,9	1,01	0,99
Alta	25	221,1	4,74	2,14

Reprodutibilidade:

Amostra	N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
Baixa	25	97,8	0,62	0,64
Média	25	105,6	1,86	1,77
Alta	25	230,3	2,47	1,07

Sensibilidade
A sensibilidade do kit é de 0,52 mg/dL.

Linearidade
O teste é linear até a concentração de glicose de 400 mg/dL. Diluir a amostra 1 + 2 com água destilada se a concentração de glicose da amostra estiver acima deste limite e repetir a determinação. Multiplicar o resultado por 3.

Interferentes
Soro ictérico interfere no teste e não deve ser usado. Amostras com triglicérides até 2500 mg/dL, hemoglobina até 500 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL ácido úrico 14 mg/dL, glutationa 50 mg/dL, creatinina 15 mg/dL não interferem com o teste.

Recuperação em soros controles
Soros controle comercialmente disponíveis foram usados. Os soros controle foram reconstituídos/preparados de acordo com as instruções do fabricante. Os valores medidos foram comparados com os valores alvos. A recuperação dos soros controle se encontrou dentro da faixa de aceitabilidade tanto testado manualmente como em um analisador automatizado.

APRESENTAÇÃO DO KIT

Nº Cat.	Reagente	Volume
815-3	RGT PAD	3 x 60 mL 1 x 3 mL

BIBLIOGRAFIA
1. Barham, D., and Trinder, P., Analyst 97 (1972) 142-145.
2. Teuscher, A., and Richterich, P., Schweiz med. Wschr. 101 (1971) 345 e 390.
3. TIETZ, N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd. Edition (1987), 676 - 679, W.B. Saunders Company Philadelphia

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF-MG 4463
ANVISA: 10303460585 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO


Data limite de utilização


Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo


Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro


Data de Fabricação