



Glicemia

enzimática

Método enzimático para la determinación de glucosa
en suero o plasma

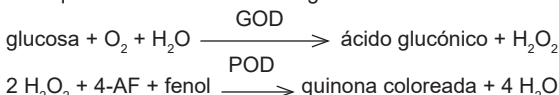
SIGNIFICACION CLINICA

La patología más común relacionada con el metabolismo de los hidratos de carbono es la diabetes mellitus. El diagnóstico precoz y el control de los pacientes diabéticos, tienen por objeto evitar la cetoacidosis y las complicaciones de los síntomas resultantes de la hiperglicemia, mediante el tratamiento adecuado.

Dado que existen múltiples factores causales de hiper o hipoglicemia, debe considerarse en cada caso la condición fisiológica y/o la patología presente en el paciente en cuestión.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El esquema de reacción es el siguiente:



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de 4-aminofenazona 25 mmol/l en Buffer Tris 0,92 mol/l.

B. Reactivo B: solución de fenol 55 mmol/l.

C. Reactivo C: solución de glucosa oxidasa (1000 U/ml) y peroxidasa (120 U/ml).

S. Standard: solución de glucosa 1 g/l.

Concentraciones finales

GOD	≥ 3000 U/l
POD	≥ 400 U/l
4-AF	1,25 mM
Fenol	2,75 mM
pH	7,4 ± 0,1

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada. Ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Standard: listo para usar.

Reactivo A: listo para usar.

Reactivo B: listo para usar. Ver PRECAUCIONES.

Reactivo C: homogeneizar por inversión antes de usar, evitando la formación de espuma.

Reactivo de Trabajo: de acuerdo al volumen de trabajo, colocar en una probeta 500 partes de agua destilada, 50 partes de Reactivo A, 50 partes de Reactivo B y llevar a 1000 partes con agua destilada. Agregar 3 partes de Reactivo C previamente homogeneizadas. Mezclar por inversión, sin agitar. Rotular y fechar. Pueden prepararse distintas cantidades respetando las proporciones antedichas. Es importante además, respetar el orden de agregado de los reactivos y asegurar una perfecta

homogeneización de los mismos, a fin de que el Reactivo B no deteriore el Reactivo de Trabajo.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo B (fenol) es nocivo y corrosivo. H301 + H311 + H331 Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.

H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil.

Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No mantener a temperaturas elevadas durante lapsos prolongados.

Reactivo de Trabajo: en refrigerador (2-10°C) y en frasco color caramelo es estable un mes a partir de la fecha de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Durante el uso, el Reactivo de Trabajo puede desarrollar un ligero color rosado que no afecta su funcionamiento siempre que se procese un Blanco con cada lote de determinaciones y un Standard periódicamente. Desechar cuando las lecturas del Blanco sean superiores a 0,160 D.O. o las lecturas del Standard sean anormalmente bajas.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener suero o plasma de la manera usual. Cuando no es posible extraer sangre venosa o en casos de extrema urgencia, la determinación se puede realizar en sangre capilar.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de Anticoagulante G de Wiener lab. para su obtención (el mismo contiene fluoruro como conservador).

c) Sustancias interferentes conocidas: los sueros o plasmas con hemólisis visible o intensa deben ser desproteinizados.

No se observan interferencias por: bilirrubina hasta 200 mg/l,

ácido ascórbico hasta 75 mg/l, ácido úrico hasta 200 mg/l, hemólisis ligera.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: los hematíes y leucocitos son los responsables de la destrucción enzimática de la glucosa sanguínea, siendo máxima a 37°C, razón por la cual debe centrifugarse la sangre dentro de las dos horas posteriores a la extracción, hasta obtener un sobrenadante límpido y transferir a otro tubo para su conservación. En estas condiciones la glucosa es estable 4 horas a temperatura ambiente o 24 horas refrigerada (2-10°C). En caso de no poder procesarse la muestra de la forma antes indicada, deberá adicionarse un conservador en el momento de la extracción para inhibir la glucólisis.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Material volumétrico adecuado.
- Frasco de vidrio color caramelo.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 505 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 20 ul
- Volumen de Reactivo de Trabajo: 2 ml
- Volumen final de reacción: 2,02 ml

Los volúmenes de Muestra y de Reactivo pueden variarse proporcionalmente (Ej.: 50 ul de Muestra + 5 ml de Reactivo de Trabajo).

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco) S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Standard	-	20 ul	-
Muestra	-	-	20 ul
Reactivo de Trabajo	2 ml	2 ml	2 ml

Incubar 10 minutos en baño de agua a 37°C. Luego leer en espectrofotómetro a 505 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm) llevando el aparato a cero con el blanco.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de reacción final es estable 1 hora, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{glucosa g/l} = D \times f \quad \text{donde } f = \frac{1,00 \text{ g/l}}{S}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de glicemia, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Se analizaron con **Glicemia enzimática**, 120 muestras de individuos en ayunas, de ambos sexos, con edades comprendidas entre 20 y 45 años, provenientes de la ciudad de Rosario (Argentina), sin síntomas de diabetes o cualquier otra enfermedad aparente. Se encontró que el 95% de los resultados cubrieron el siguiente rango:

Suero o plasma: 0,70 a 1,10 g/l

En la literatura (Tietz, N.W.) se menciona el siguiente rango de referencia:

Suero o plasma: 0,74 - 1,06 g/l

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia, teniendo en cuenta sexo, edad hábitos alimenticios y otros factores.

CONVERSION DE UNIDADES

Glucosa (g/l) = Glucosa (mg/dl) x 0,01

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Los reductores disminuyen la respuesta de color, mientras que los oxidantes colorean el Reactivo aumentando los Blancos. Dichos agentes son frecuentemente encontrados en el agua destilada empleada para preparar el Reactivo de Trabajo, por lo que se recomienda controlar la calidad de la misma.

Los detergentes, metales pesados y cianuros son inhibidores enzimáticos.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en 10 días diferentes, se obtuvo lo siguiente:

Nivel	D.S.	C.V.
1,00 g/l	± 0,022 g/l	2,37 %
2,00 g/l	± 0,030 g/l	1,50 %

b) Recuperación: agregando cantidades conocidas de glucosa a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 99 y 101%.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 4,5 g/l. Para valores superiores, diluir 1/2 la solución coloreada final con el Reactivo de Trabajo y repetir la lectura multiplicando el resultado final por dos.

d) Exactitud: empleando el método de la hexoquinasa como referencia, se observa que la correlación estadística entre ambos métodos es excelente ($r = 0,99$).

e) Sensibilidad: el mínimo límite de detección es 0,0054 g/l y la sensibilidad analítica es de 0,042 g/l.

PRESENTACION

- 1000 ml (Cód. 1400101)

BIBLIOGRAFIA

- Henry, R.J.; Cannon, D.C; Winkelman, J. - Clinical Chemistry, Principles and Techniques, 2nd. ed., Harper and Row Publishers Inc. N.Y. (1974) p. 1288.
- Lott, J.A. and Turner, K. - Clin. Chem. 21, 1754-1760 (1975).
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3rd Ed. - Saunders Co., 1999.
- 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).



Glicemia

enzimática

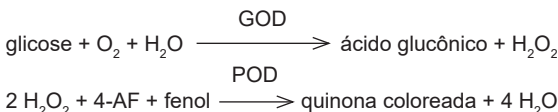
Método enzimático para a determinação da glicose em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

A patologia mais freqüente relacionada com o metabolismo dos hidratos de carbono é a diabetes mellitus. O diagnóstico precoce e o controle dos pacientes diabéticos, têm por objetivo evitar a acetoacidose e as complicações dos sintomas resultantes da hiperglicemia, pelo tratamento adequado. Posto que existem muitos fatores causais de hiper ou hipoglicemia, devem-se considerar em cada caso a condição fisiológica e a patologia do paciente.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A seqüência reacional é a seguinte:



REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução de 4-aminofenazona 25 mmol/l em Tampão Tris 0,92 mol/l.

B. Reagente B: solução de fenol 55 mmol/l.

C. Reagente C: solução de glicose oxidase (1000 U/ml) e peroxidase (120 U/ml).

S. Padrão: solução de glicose 1 g/l.

Concentrações finais

GOD	≥ 3000 U/l
POD	≥ 400 U/l
4-AF	1,25 mM
Fenol	2,75 mM
pH	7,4 ± 0,1

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Água destilada. Vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO.

INSTRUÇÕES PARA USO

Padrão: pronto para uso.

Reagente A: pronto para uso.

Reagente B: pronto para uso. Vide PRECAUÇÕES.

Reagente C: homogeneizar por inversão antes de usar, evitando a formação de espuma.

Reagente de Trabalho: conforme ao volume de trabalho, colocar em uma proveta 500 partes de água destilada, 50 partes de Reagente A, 50 partes de Reagente B e levar a 1000 partes com água destilada. Adicionar 3 partes de Reagente C previamente homogeneizadas. Misturar por inversão, sem agitar. Rotular e datar. Para preparar diferentes quantidades devem ser respeitadas as proporções mencionadas anteriormente e também a ordem de adição dos

reagentes, assegurando uma perfeita homogeneização dos mesmos, para que o reativo de fenol não deteriore o Reativo de Trabalho.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

O Reagente B (fenol) é nocivo e corrosivo. H301 + H311 + H331 Tóxico por ingestão, contacto com a pele ou inalação. H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. P262 Não pode entrar em contacto com os olhos, a pele ou a roupa. P305 + P351 + P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. P302 + P352 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P280 Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. 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: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Não expor a temperaturas elevadas por intervalos prolongados.

Reagente de Trabalho: sob refrigeração (2-10°C) e em frasco de vidro cor âmbar, se mantém estável por 1 mês a partir da data em que foi preparado.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE O DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Durante o seu uso, o Reagente de Trabalho pode desenvolver uma cor levemente rósea que não afeta o seu funcionamento desde que um Branco seja processado para cada lote de determinações e um Padrão periodicamente. Rejeitar quando as leituras do Branco sejam superiores a 0,160 D.O. ou as leituras do Padrão apresentem valores anormalmente baixos.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: deve-se obter soro ou plasma da maneira usual. Quando não é possível extrair sangue venoso ou em casos de extrema urgência, a determinação pode ser realizada em sangue capilar.

b) Aditivos: caso a amostra a ser empregada seja plasma, recomenda-se o uso do Anticoagulante G de Wiener lab. para sua obtenção (o mesmo contém fluoreto como conservante).

c) Substâncias interferentes conhecidas: os soros ou plasma

com hemólise evidente ou intensa devem ser desproteinizados. Não se observam interferências por: bilirrubina até 200 mg/l, ácido ascórbico até 75 mg/l, ácido úrico até 200 mg/l, hemólise ligeira. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: as hemácias e os leucócitos são os responsáveis pela destruição enzimática da glicose sanguínea, sendo máxima a 37°C, razão pela qual o sangue deve ser centrifugado, durante duas horas (contadas a partir da extração), obtendo-se um sobrenadante límpido que deve ser transferido a outro tubo para a sua conservação. Nestas condições a glicose é estável 4 horas a temperatura ambiente ou 24 horas refrigerada (2-10°C). Caso a amostra não possa ser processada da forma anteriormente indicada deve ser adicionado um conservante no momento da extração para inibir a glicólise.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro
- Material volumétrico adequado
- Frasco de vidro cor âmbar
- Tubos ou cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Banho-maria a 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: 10 minutos
 - Volume de amostra: 20 µl
 - Volume de Reagente de Trabalho: 2 ml
 - Volume final de Reação: 2,02 ml
- Volumes de Amostra e de Reagente podem variar proporcionalmente. (Ex.: 50 µl de Amostra + 5 ml de Reagente de Trabalho).

PROCEDIMENTO

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

	B	P	D
Padrão	-	20 µl	-
Amostra	-	-	20 µl
Reagente de Trabalho	2 ml	2 ml	2 ml

Colocar em banho-maria durante 10 minutos a 37°C. Em seguida, ler no espectrofotômetro a 505 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm), zerando o aparelho com o Branco.

ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

A cor de reação final é estável durante 1 hora, conseqüentemente a absorbância pode ser lida dentro deste intervalo.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

$$\text{glicose g/l} = D \times f \quad \text{onde } f = \frac{1,00 \text{ g/l}}{P}$$

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**, 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: 74 - 106 mg/dl

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 0,00555 = Glicose (mmol/l)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Os redutores diminuem as respostas de cor, enquanto que os oxidantes colore o Reagente, aumentando os Brancos. Tais agentes são frequentemente encontrados na água destilada utilizada para preparar o Reagente de Trabalho, de forma que é recomendável controlar a qualidade da mesma. Os detergentes, metais pesados e cianetos são inibidores enzimáticos.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando réplicas das mesmas amostras em 10 dias diferentes, obtivera-se o seguinte:

Nível	D.P.	C.V.
1,00 g/l	± 0,022 g/l	2,37 %
2,00 g/l	± 0,030 g/l	1,50 %

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

c) Linearidade: a reação é linear até 4,5 g/l. Para valores superiores diluir a metade da solução colorida final com o Reagente de Trabalho e repetir a leitura, multiplicando o resultado final por 2.

d) Exatidão: empregando o método da hexoquinase como referência observa-se que a correlação estatística entre ambos os métodos é excelente (r= 0,99).

e) Sensibilidade: o mínimo limite de detecção é 0,0054 g/l e a sensibilidade analítica é 0,042 g/l.

APRESENTAÇÃO

- 1000 ml (Cód. 1400101)

REFERÊNCIA

- Henry, R.J.; Cannon D.C., Winkelman, J. Clinical Chemis-

- try, Principles and Techniques, 2nd. ed. Harper and Row Publishers Inc. N. Y. (1974) p. 1288.
- Lott, J.A. and Turner, K. -Clin. Biochem. 21, 1754-1760 (1975).
 - Tietz, N. W. - Fundamentals of Clinical Chemistry,. W. B. Saunders Co., Philadelphia PA. p. 154 (1970).
 - Trinder, P. Ann. Clin. Chem. 21/5 : 304 D (1975).
 - 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).



Glicemia

enzimática

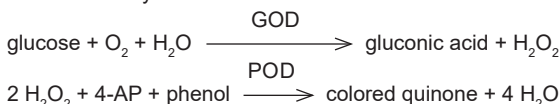
Enzymatic method for glucose determination in serum
or plasma

SUMMARY

Diabetes mellitus is the pathology most commonly related to carbohydrates metabolism. Early diagnosis and the periodic monitoring of diabetic patients are aimed to prevent both ketoacidosis as well as complications of the symptoms coming from hyperglycemia, by means of a proper therapy. Due to the existence of many causative factors of hypo- or hyperglycemia, physiological conditions and specific pathological features should be individually considered for each patient.

PRINCIPLE

The reaction system is as follows:



PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: 25 mmol/l 4-aminophenazone solution in 0.92 mol/l Tris Buffer.

B. Reagent B: 55 mmol/l phenol solution.

C. Reagent C: glucose oxidase solution (1000 U/ml) and peroxidase (120 U/ml).

S. Standard: 1 g/l glucose solution.

Final concentrations

GOD	≥ 3000 U/l
POD	≥ 400 U/l
4-AP	1.25 mM
Phenol	2.75 mM
pH	7.4 ± 0.1

NON-PROVIDED REAGENTS

Distilled water. See PROCEDURE LIMITATIONS

INSTRUCTIONS FOR USE

Standard: ready to use.

Reagent A: ready to use.

Reagent B: ready to use. See WARNINGS.

Reagent C: mix by inversion before use, avoiding foam formation.

Working Reagent: according to the volume to prepare, in a test tube place 500 parts of distilled water, 50 parts of Reagent A, 50 parts of Reagent B and take to 1000 parts with distilled water. Add 3 parts of Reagent C previously homogenized. Mix by inversion without stirring. Label and date. Different quantities can be prepared following the above proportions. It is also important to respect the order of addi-

tion of the reagents and ensure their perfect homogenization, so that Reagent B does not deteriorate the Working Reagent.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Reagent B (phenol) is harmful and corrosive. H301 + H311 + H331: Toxic if swallowed, in contact with skin or if inhaled. H314: Causes severe skin burns and eye damage. P262: Do not get in eyes, on skin, or on clothing. P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. Use reagents maintaining the usual work precautions in the clinical laboratory. All reagents and samples must be discarded according to local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Avoid exposure to high temperatures for extended periods of time.

Working Reagent: in refrigerator (2-10°C) and in caramel-colored bottle it is stable for one month from preparation date.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

During use, the Working Reagent may develop a light pink coloration which does not affect its performance as long as, periodically, a Blank is processed for each lot of determination and a Standard is periodically used. Discard when the Blank readings are higher than 0.160 O.D. or the Standard readings are abnormally low.

SAMPLE

Serum or plasma

a) Collection: obtain serum or plasma as usual. When it is impossible to withdraw venous blood or in cases of extreme urgency, the test can be performed in capillary blood.

b) Additives: when using plasma, the use of Wiener lab's **Anticoagulante G** is recommended for collection (it contains fluoride as preservative).

c) Known interfering substances: sera or plasmas with visible or intense hemolysis should be deproteinized. No interferences are observed with: bilirubin up to 200 mg/l, ascorbic acid up to 75 mg/l, uric acid up to 200 mg/l, slight hemolysis. Refer to Young, D.S. in References for the effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: red blood cells and leukocytes are responsible for the enzymatic destruction of

blood glucose, reaching its maximum at 37°C. Therefore, blood should be centrifuged within 2 hours after collection until a clear supernatant is obtained and transfer to another tube for storage. In these conditions, glucose is stable for 4 hours at room temperature or for 24 hours refrigerated (2-10°C). When it is impossible to process the sample as indicated above, add a preservative to blood at collection to inhibit glycolysis.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer or photocolorimeter.
- Suitable volumetric material.
- Caramel-colored glass bottle.
- Tubes or square spectrophotometric cuvettes.
- Water bath at 37°C.
- Watch or timer.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 505 nm in spectrophotometer or in photocolorimeter with green filter (490-530 nm).
 - Reaction temperature: 37°C
 - Reaction time: 10 minutes
 - Sample volume: 20 ul
 - Working Reagent volume: 2 ml
 - Final reaction volume: 2.02 ml
- Sample and Reagent volumes may proportionally vary (e.g. 50 ul Sample + 5 ml Working Reagent).

PROCEDURE

In three test tubes labeled B (Blank), S (Standard) and U (Unknown) place:

	B	S	U
Standard	-	20 ul	-
Sample	-	-	20 ul
Working Reagent	2 ml	2 ml	2 ml

Incubate for 10 minutes in water bath at 37°C. Then read in spectrophotometer at 505 nm or in photocolorimeter with green filter (490-530 nm) setting the instrument to zero O.D. with the Blank.

STABILITY OF FINAL REACTION

Final reaction color is stable for 1 hour therefore absorbance should be read within that period.

CALCULATIONS

$$\text{Glucose g/l} = U \times f \quad \text{where } f = \frac{1.00 \text{ g/l}}{S}$$

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known glucose concentration.

REFERENCE VALUES

In a study performed with **Glicemia enzimática** among 120

fasting individuals from Rosario (Argentina), from both sexes, aged between 20 and 45 years old, without presenting symptoms of diabetes or other diseases, 95% of the results covered this range:

Serum or plasma: 0.70 - 1.10 g/l

In the bibliography (Tietz, N.W.) the following reference range is mentioned:

Serum or plasma: 0.74 - 1.06 g/l

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values, considering age, sex, dietary habits and other factors.

UNITS CONVERSION

Glucose (g/l) = Glucose (g/l) x 0.01

Glucose (mg/dl) x 0.0555 = Glucose (mmol/l)

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known Interfering Substances under SAMPLE. Reducing agents decrease the color response, while oxidants color the Reagent increasing the Blanks. These agents are often found in the distilled water used to prepare the Working Reagent, so it is recommended to monitor water quality. Detergents, heavy metals and cyanides are enzymatic inhibitors.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: testing replicates from the same sample in 10 different days, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
1.00 g/l	± 0.022 g/l	2.37 %
2.00 g/l	± 0.030 g/l	1.50 %

b) Recovery: by adding known amounts of glucose to various sera, a recovery between 99% and 101% was obtained.

c) Linearity: reaction is linear up to 4.5 g/l. For higher values, dilute ½ the final colored solution with the Working Reagent and repeat the reading multiplying the final result by two.

d) Accuracy: using the hexokinase method as reference it was noted that the statistical correlation between methods was excellent (r = 0.99).

e) Sensitivity: the minimum detection limit is 0.0054 g/l and the analytical sensitivity is 0.042 g/l.

WIENER LAB PROVIDES

- 1000 ml (Cat. No. 1400101).

REFERENCES

- Henry, R.J.; Cannon, D.C; Winkelman, J. - Clinical Chemistry, Principles and Techniques, 2nd. ed., Harper and Row Publishers Inc. N.Y. (1974) p. 1288.
- Lott, J.A. and Turner, K. - Clin. Chem. 21, 1754-1760 (1975).
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3rd Ed. - Saunders Co., 1999.
- 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).

SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS

Símbolos que podrían encontrarse en los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Símbolos que podem ser encontrados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // Symbols that might be found on Wiener lab diagnostic reagent kits.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by

 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at)

 No congelar // Não congelar // Do not freeze

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution

 Contenido // Conteúdo // Contents

 Número de lote // Número de lote // Batch code

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:

 Nocivo // Nocivo // Harmful

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic

 Irritante // Irritante // Irritant

 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use

 Calibrador // Calibrador // Calibrator

 Control // Controle // Control

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number

IVD

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Disp. N°: 1357/79-318/00-600/08



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina