

Determinazione del glucosio nel siero, plasma o urine. Metodo GOD PAP enzimatico colorimetrico, endpoint.

REF CC1200 R1: 4x100 mL + R2: 1x3 mL (standard)

REF CC1202 R1:4x250 mL+ R2: 1x3 mL (standard)

PRINCIPIO E METODO

Il Glucosio viene ossidato enzimaticamente da parte della Glucosio Ossidasi (GOD) con produzione di Perossido di Idrogeno (H₂O₂).

Quest'ultimo composto, per l'azione dell'enzima Perossidasi (POD), ossida la 4-Aminoantipirina per formare il rosso quinone che può essere misurato fotometricamente (reazione di Trinder). La misura di tale assorbanza (densità ottica) è direttamente proporzionale al Glucosio inizialmente contenuto nel campione in esame. L'uso di un calibratore a titolo noto rende possibile una analisi quantitativa.

GOD

Glucosio + O₂ + H₂O -----> Acido Gluconico + H₂O₂

POD

2 H₂O₂ + 4-Aminoantipirina + Fenolo -----> Quinone-imina + 4 H₂O

SIGNIFICATO CLINICO

Il Glucosio è la maggiore fonte di energia per il corpo umano, derivato dalla scomposizione dei carboidrati ottenuti dalla dieta quotidiana e dal processo di glicogenolisi (scomposizione del glicogeno immagazzinato nel corpo) e dalla gluconeogenesi (sintesi endogena dagli aminoacidi e da altre sostanze). Il livello di glucosio nel sangue è mantenuto dall'apporto dietetico pronto e ormoni regolatori come l'insulina, il glucagone o l'epinefrina. Un aumento anormale del livello ematico di glucosio indicato come iperglicemia, può essere associato al diabete mellito e ad iperattività della tiroide, alla ghiandola pituitaria (adrenalinica) o surrenale. Un anormale decremento al di là del livello del digiuno, indicato come ipoglicemia, si osserva in caso di overdose di insulina, tumori con secrezioni di insulina, mixedema, ipopituitarismo, morbo di Addison e condizioni di interferenza con l'assorbimento di glucosio. La determinazione del glucosio è un test chiave per diagnosticare disordini metabolici.

COMPOSIZIONE REAGENTI

Reagente (R1)

Tampone Fosfato, pH 7.5	250 mmol/L
Fenolo	5 mmol/L
4-Aminoantipirina	0.5 mmol/L
Glucosio ossidasi (GOD)	≥15 kU/L
Perossidasi (POD)	≥1 kU/L

Reagente (R2)

Standard (Glucosio):	valore in etichetta
----------------------	---------------------

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati oppure l'Assorbanza del Bianco Reagente > 0,200 a 546 nm in cuvetta da 1 cm.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero, plasma da eparina o da EDTA.

Urina diluita 1:10 (p. es. 0,1 mL urina + 0,9 mL H₂O).

Evitare campioni emolisati o lipemici. Separare il siero dal coagulo entro una (1) ora dal prelievo. Analizzare i campioni nel più breve tempo possibile.

Stabilità nel plasma (per aggiunta di un inibitore glicolitico come fluoruri, monoiodoacetato): 2 giorni a 20 – 25°C, 7 giorni a 4 – 8°C.

Stabilità nel siero (separato dalla parte corpuscolata, non emolisato): 8 ore a 25 °C, 72 ore a 4 °C.

Congelare una sola volta. Scartare campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 546 nm (510-570)

Temperatura: 37° C

Misura: contro acqua distillata

Pipettare come segue

Reagente 1	1000 µL
Campione, Std. / Cal / H ₂ O	10 µL

Miscelare, incubare per 5 minuti, leggere l'assorbanza entro 60 min.

CALCOLO

Siero, Plasma

Abs Campione – Abs Bianco Reag.

Glucosio = $\frac{\text{Abs Campione} - \text{Abs Bianco Reag.}}{\text{Abs Std/Cal} - \text{Abs Bianco Reag.}}$ x Conc. Std/Calibratore

Urine

Calcolare come per il siero e moltiplicare il risultato per 10 (diluizione iniziale del campione urinario)

Glucosio (g/Urine 24h) = $\frac{\text{Glucosio urine (mg/dL)}}{100}$ x Vol. in 24h (Litri)

Fattore Conversione: mg/dL x 0,05556= mmol/L

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa allo standard accluso alla confezione, è possibile utilizzare il Calibratore di **MTD Diagnostics**:

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO DI QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO

	[mg/dL]	[mmol/L]
Sangue cordone	63 - 158	3.5 - 8.8
Neonati 1 h	36 - 99	2.0 - 5.5
Neonati 2 h	34 - 77	1.9 - 4.3
Neonati 5 - 14 h	34 - 77	1.9 - 4.3
Neonati 44 - 52 h	48 - 79	2.7 - 4.4
Bambini 1 - 6 anni	74 - 127	4.1 - 7.0
Bambini 7 - 19 anni	70 - 106	3.9 - 5.9
Adulti Siero/plasma	60 - 110	3.3 - 6.1
Adulti Urine	< 0,5 g/24h	< 27.7 mmol/24h

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 89; D.S. = 0,72; CV = 0,81%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 297; D.S. = 2,45; CV = 0,82%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1.00 x + 1.0 \quad r = 0.999$$

SENSIBILITA': 5 mg/dL

LINEARITA': 5 - 500 mg/dL

SPECIFICITA' / INTERFERENZE

Non sono state osservate interferenze con Acido Ascorbico fino a 15 mg/dL, con Bilirubina fino a 20 mg/dL, Emoglobina fino a 200 mg/dL e lipemia fino a 1000 mg/dL di Trigliceridi.

NOTE

1. Il reagente può essere utilizzato con differenti strumenti. Ogni applicazione su strumenti dovrebbe essere validata per dimostrare che i risultati coincidano con le caratteristiche e prestazioni del metodo. Si raccomanda di controllare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio fornitore per ogni problema relativo alla metodica applicativa.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere effettuata sui risultati di un singolo test, ma dovrebbe essere integrata con dati clinici e di laboratorio.

PRECAUZIONI

La miscela contiene:

FENOLO 5 mmol/L - CAS 108-95-2 T R23/24/25 (H331 - H301 - H311) - C R34 (H314)

4-AMINOANTIPYRINE 0.3 mmol/L - CAS 83-07-8 Xn R22 (H302)

SODIO AZIDE 0,7 gr/Lt - CAS 26628-22-8 ; N.EC. 247-852-1

H301 - Tossico se ingerito

H302 - Nocivo se ingerito

H311 - Tossico per contatto con la pelle.

H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari

H331 - Tossico se inalato

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 - P351 - P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 - P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 - P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 - P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Trinder, P. Ann. Clin. Biochem. 6 : 24 (1969).

Barham, D. and Trinder, P. Analyst. 97: 142 (1972).

Szasz, B., Hurt, K. and Busch, E.W. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 12 : 256 (1974).

Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).