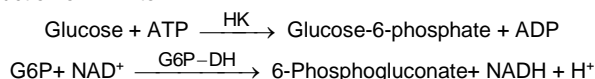


Quantitative determination of glucose IVD

Store at 2-8 °C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Hexokinase (HK) catalyzes the phosphorylation of glucose to glucose-6-phosphate (G6P) by ATP. The formed glucose-6-phosphate is reduced to 6-phosphogluconate in the presence of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) with the subsequent reduction of NAD to NADH:



The increase in concentration of NADH is proportional to the glucose concentration in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Glucose is a major source of energy for most cells of the body; insulin facilitates glucose entry into the cells.

Diabetes is a disease manifested by hyperglycemia; patients with diabetes demonstrate an inability to produce insulin^{1,5,6}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1 Buffer	TRIS pH 7,5	4 mmol/L
	ATP	2,1 mmol/L
	Mg ²⁺	0,8 mmol/L
R 2 Enzymes	NAD ⁺	2 mmol/L
	Hexokinase (HK)	1000 U/L
	Glucose-6-phosphate (G6P-DH)	1000 U/L
GLUCOSE CAL	Glucose aqueous primary standard 100 mg/dL	

PREPARATION

Working reagent (WR): Dissolve (→) the contents of one vial of R 2 Enzymes in one bottle of R 1 Buffer.

Cap and mix gently to dissolve contents.

The reagent is stable after reconstitution 1 month in the refrigerator (2-8°C) or 7 days at room temperature (15-25°C).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm ≥ 0,30.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

- Serum or plasma free of hemolysis¹.
- Serum should be removed from the clot as quickly as possible.
- Urine¹.

Stability of the sample: Glucose in serum or plasma is stable at 2-8° for 3 days.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 340 nm
Cuvette: 1 cm. light path
Temperature: 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
WR (mL)	1,0	1,0	1,0
Standard ^(Note 1,2,3) (µL)	--	10	--
Sample (µL)	--	--	10

- Mix and incubate for 5 min. at 37°C or 10 min. at room temperature (15-25°C).
- Read the absorbance (A) of the samples and calibrator, against the Blank.

CALCULATIONS

$$\frac{(A)_{\text{Sample}} - (A)_{\text{Blank}}}{(A)_{\text{Standard}} - (A)_{\text{Blank}}} \times 100 \text{ (Standard conc.)} = \text{mg/dL glucose in the sample}$$

Conversion factor: mg/dL x 0,0555= mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

Serum or plasma:

$$60 - 110 \text{ mg/dL} \cong 3,33 - 6,10 \text{ mmol/L}$$

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From *detection limit* of 0,16 mg/dL to *linearity limit* of 600 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	99,5	244	98,0	247
SD	0,83	1,70	1,60	3,75
CV (%)	0,83	0,70	1,63	1,51

Sensitivity: 1 mg/dL = 0,0036 A.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0,9891

Regression equation: y=0,9877x + 0,9366

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Hemoglobin up to 19 g/L and bilirubin up to 100 mg/L, do not interfere¹.

A list of drugs and other interfering substances with glucose determination has been reported by Young et. al^{3,4}.

NOTES

- GLUCOSE CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

- Kaplan L.A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

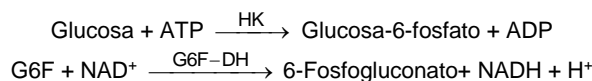
Ref: 1001200 Cont. R1:10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
 Ref: 1001201 Cont. R1:10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

Determinación cuantitativa de glucosa IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

La hexokinasa (HK) cataliza la fosforilación de la glucosa por ATP a glucosa-6-fosfato (G6F). La glucosa-6-fosfato originada es reducida a 6-fosfogluconato en presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH) con reducción paralela de NAD a NADH:



El aumento en la concentración de NADH en el medio es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLINICO

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células. La diabetes mellitus es una enfermedad que cursa con una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina^{1,5,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	TRIS pH 7,5	4 mmol/L
	ATP	2,1 mmol/L
	Mg ²⁺	0,8 mmol/L
R 2 Enzimas	NAD ⁺	2 mmol/L
	Hexoquinasa (HK)	1000 U/L
	Glucosa-6-fosfato (G6F-DH)	1000 U/L
GLUCOSE CAL	Calibrador primario de Glucosa 100 mg/dL	

PREPARACION

Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón.

Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad (RT): 1 mes en nevera (2-8°C) o 7 días a Temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 340 nm \geq 0,30.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Suero o plasma libre de hemolisis¹.
 - El suero debe separarse lo antes posible del coágulo.
 - Orina¹.
- Estabilidad: La glucosa en suero o plasma es estable 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 340 nm
 - Cubeta: 1 cm paso de luz
 - Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota1,2,3) (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. a temperatura ambiente (15-25°C).
- Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

CALCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 100 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mg/dL de glucosa en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,0555= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:
60 – 110 mg/dL \cong 3,33 – 6,10 mmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,000 mg/dL hasta el límite de linealidad de 600 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	91,9	249	93,2	250
SD	0,49	1,28	1,35	2,78
CV (%)	0,54	0,58	1,45	1,11

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0331A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99812

Ecuación de la recta de regresión: y=0,1405x – 2,5580.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemoglobina hasta 19 g/L y bilirrubina hasta 100 mg/L, no interfieren^{1,2}.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la glucosa^{3,4}.

NOTAS

- GLUCOSE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFIA

- Kaplan L.A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACION

Ref: 1001200 R1:10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
 Ref: 1001201 Cont. R1:10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL