

Fructosamine

NBT. Kinetic

Quantitative determination of fructosamine IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Under alkaline conditions the fructosamine or glycated serum proteins reduce a nitro-blue tetrazolium chloride (NBT) salt. The colour developed is directly proportional to the serum fructosamine concentration¹.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Glucose forms stable glycated serum proteins with several plasmatic proteins, mainly, albumin, in covalent union. The determination of fructosamina is based on the measurement of these glycoproteins.

The measurement of fructosamine has utility to know retrospectively (2-3 weeks) the level of glucose concentration in blood.

This test is used for control and monitoring of diabetic patients and not for diagnosis^{5,6}.

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

REAGENTS

R 1	Carbonate	200 mmol/L
Buffer	Detergents	
R 2	Nitrotetrazolium chloride (NBT)	0.48 mmol/L
Enzymes	Uricase	3000 U/L
FRUCTOSAMINE CAL	Calibrator lyophilised serum	

PREPARATION

- Working reagent (WR):

Dissolve (→) 1 tablet of R 2 Enzymes with one vial R 1 Buffer. Cap vial and mix gently to dissolve contents. The reagent is stable after reconstitution 15 days at 2-8°C or 5 days at room temperature (15-25°C). Protected from light.

- FRUCTOSAMINE CAL:

Dissolve (→) the contents of one vial Calibrator with 1 mL of distilled water. Cap vial and mix gently to dissolve contents. The reconstituted calibrator is stable 15 days at 2-8°C or 2 months at -20°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 the tablets if appears broken.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 520 ≥ 0.30.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 520 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum^{1,2}:

Don't use haemolized samples. Separated from cells as rapidly as possible. Stability of the sample: 7 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 520 (490-550) nm
Cuvette: 1 cm light path
Temperature: 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Calibrator	Sample
WR (mL)	1.0	1.0	1.0
Calibrator (µL)	--	100	--
Sample (µL)	--	--	100

- Mix, incubate at 37°C and start stopwatch.
- Read the absorbance (A₁) of the calibrator and sample exactly after 10 min and after 15 min (A₂) of the sample addition against distilled water.
- Calculate: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CALCULATIONS

$$\frac{(\Delta A)_{\text{Sample}}}{(\Delta A)_{\text{Calibrator}}} \times \text{Calibrator conc.} = \mu\text{mol/L of fructosamine in the sample}$$

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

In nondiabetic samples: 187 – 287 µmol/L¹.

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

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 1 µmol/L to linearity limit of 1000 µmol/L.

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 (µmol/L)	217	587	197	552
SD	4.71	8.31	4.20	10.2
CV (%)	2.17	1.41	2.12	1.85

Sensitivity: 1 µmol/L = 00020 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): 0.992

Regression equation: $y = 0.991x + 1.473$

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

INTERFERENCES

Do not interfere: Hemolysis up to 5 g/L, bilirubin up to 20 mg/dL and triglycerides up to 6 gr/L^{1,2}.

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

NOTES

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Baker JR. et al. Use of protein-based standards in automated colorimetric determinations of fructosamine in serum. Clin Chem 1985; (31/9): 1550-1554.
- Hurst P. Clin Chem 1987; (33/10): 1947.
- 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: 1001158	Cont.	R1, R2 (Tablets): 19 x 3 mL, CAL: 1 x 1 mL
--------------	-------	--

Determinación cuantitativa de fructosamina IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

En medio alcalino las fructosaminas o proteínas séricas glicadas reducen las sales azul de nitrotetrazolio (NBT). La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fructosamina en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLINICO

La glucosa forma glicoproteínas estables con varias proteínas plasmáticas, principalmente, la albúmina, en unión covalente. La determinación de fructosamina se basa en la medición de estas glicoproteínas

La medición de la fructosamina tiene utilidad para conocer retrospectivamente (2-3 semanas) el nivel de la concentración de glucosa en sangre.

Este ensayo debe utilizarse para control y seguimiento de individuos diabéticos y no como diagnóstico^{5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	Carbonato Detergentes	200 mmol/L
R 2 Enzimas	Cloruro de nitrotetrazolio (NBT) Uricasa	0,48 mmol/L 3000 U/L
FRUCTOSAMINE CAL	Calibrador suero liofilizado	

PREPARACION
- Reactivo de trabajo (RT):

Disolver (→) un comprimido de R 2 Enzimas en un vial de R 1 Tampón. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 15 días en nevera (2-8°C) o 5 días a temperatura ambiente (15-25°C). Proteger de la luz.

- FRUCTOSAMINE CAL:

Reconstituir (→) el contenido de un vial con 1 mL de agua destilada. Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 15 días a 2-8°C o 2 meses a -20°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 la contaminación.

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.

- Absorbancia (A) del Blanco a 520 nm ≥ 0,30.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 520 nm.

- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.

- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero^{1,2}.

No utilizar muestras hemolizadas. Separar el suero de los hematies lo antes posible. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda:520 (490-550) nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura: 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Calibrador	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Calibrador (µL)	--	100	--
Muestra (µL)	--	--	100

- Mezclar e incubar a 37°C, poner en marcha el cronómetro.
- Leer la absorbancia (A₁) del calibrador y la muestra exactamente a los 10 min y a los 15 min (A₂), frente a agua destilada.
- Calcular: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CALCULOS

$$\frac{(\Delta A)_{\text{Muestra}}}{(\Delta A)_{\text{Calibrador}}} \times \text{Conc. Calibrador} = \mu\text{mol/L de fructosamina en la muestra}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL 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 no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

En individuos no diabéticos: 187 – 287 µmol/L¹.

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

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *limite de detección* de 1 µmol/L hasta el *limite de linealidad* de 1000 µmol/L.

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

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (µmol/L)	217	587	197	552
SD	4,71	8,31	4,20	10,2
CV (%)	2,17	1,41	2,12	1,85

Sensibilidad analítica: 1 µmol/L = 00020 A.

Exactitud: Los reactivos 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): 0.992

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0.991x + 1.473$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No interfiere concentraciones de hasta: hemoglobina 5 g/L, bilirrubina 20 mg/dL y triglicéridos 6 gr/L^{1,2}.

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

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

- Baker JR. et al. Use of protein-based standards in automated colorimetric determinations of fructosamine in serum. Clin Chem 1985; (31/9): 1550-1554.
- Hurst P. Clin Chem 1987; (33/10): 1947.
- 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: 1001158

Cont.

R1, R2 (Compr.): 19 x 3 mL, CAL: 1 x 1 mL