

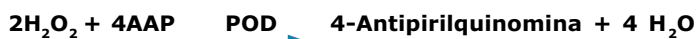
### FINALIDADE

Sistema enzimático para determinação da glicose no soro, plasma e demais líquidos biológicos.

**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

### PRINCÍPIO

Ao adicionar-se glicose em uma solução tampão de fosfatos em pH 7,4, contendo Glicose Oxidase, Peroxidase, 4-Aminoantipirina (4-AAP) e p-Hidroxibenzoato, processam-se as seguintes reações:



O produto formado pela oxidação de 4-Aminoantipirina (4-Antipirilquinimina) é de coloração avermelhada e sua intensidade, diretamente proporcional à concentração de glicose na solução. A cor avermelhada, formada pela reação, é medida em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, com absorção máxima em 510nm, ou filtro verde.

### PARTICULARIDADES DO SISTEMA

A dosagem da glicose sanguínea é o teste bioquímico mais realizado em laboratório.

Glucos é um método enzimático colorimétrico, onde se usa uma enzima específica para glicose: Glicose Oxidase. Sua simplicidade torna-o método eleito para rotina de laboratórios, sendo ainda aplicável aos diversos sistemas de automação.

O reagente **Doles** para dosagem enzimática da glicose apresenta-se em pó. Sua reconstituição é feita pela adição do conteúdo de um frasco ao volume especificado de água. A omissão do fenol (produto cáustico) no reagente estende por longos períodos a sua estabilidade.

### METODOLOGIA

Glicose Oxidase.

### REAGENTES

**Tampão/enzimas:** cada frasco contém, sob forma de pó, 3,8g em mistura homogênea dos seguintes itens: tampão fosfato, 4-Aminoantipirina, p-Hidroxibenzoato e as seguintes enzimas: Glicose Oxidase (3 KU) e Peroxidase (0,3KU).

**Solução padrão 100mg/dL:** solução aquosa contendo 100mg/dL de glicose.

### APRESENTAÇÃO

#### Ref. A

Tampão/enzimas	2 x 3,8g
Solução padrão 100mg/dL	1 x 3mL

#### Kitão

Tampão/enzimas	8 x 3,8g
Solução padrão 100mg/dL	1 x 3mL

### NÚMERO DE TESTES

#### Ref. A

Manual	250 testes (20µL amostra/2mL Reag. de Cor)
	500 testes (10µL amostra/1mL Reag. de Cor)
Automação	1200 testes

### Kitão

Manual	1000 testes (20µL amostra/2mL Reag. de Cor)
	2000 testes (10µL amostra/1mL Reag. de Cor)
Automação	4800 testes

**Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.**

### EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro capaz de medir a absorvância em 510nm fotocolorímetro com filtro verde (490-540nm).
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipeta semiautomática 20µL.
- Frasco âmbar com capacidade para 250mL.
- Banho maria (37°C).
- Cronômetro.
- Ponteiras descartáveis.
- Água deionizada ou destilada.
- Balão volumétrico de 250 mL.

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**Tampão/enzimas:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento. A solução tampão/enzimas após o preparo permanece estável por 6 meses sob refrigeração (2-8°C).

**Solução padrão 100 mg/dL:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

### CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a parte afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais. Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

### AMOSTRA

Soro, plasma, líquido e outros líquidos biológicos. A amostra deverá ser colhida com o paciente em jejum, utilizando-se anticoagulante contendo fluoreto (**Anticoagulante Glicose Doles**). A separação do plasma deverá ocorrer até duas horas após a coleta. No plasma refrigerado (2-8°C), a glicose permanece estável por três dias. Na ausência de fluoreto, a glicose é consumida pelo fenômeno da glicólise, a um ritmo de 5% por hora.

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**



## PROCEDIMENTO TÉCNICO

**Seguir rigorosamente as instruções para o preparo do reagente de cor de uso. Não colocar água no frasco contendo o tampão enzimas.**

**Preparo do reagente de cor para uso:**

**Transferir todo o conteúdo de um frasco de tampão/ enzimas para um balão volumétrico de 250mL e completar o volume com água destilada/ deionizada.**

Agitar levemente por inversão até a completa dissolução. O reagente de cor uso, após preparo, apresenta a seguinte formulação: tampão fosfato 0,1M, pH 7,4, 4-Aminoantipirina 1,25mmol, p-Hidroxibenzoato 10mmol com um mínimo de 12KU de Glicose Oxidase e 1,2KU de Peroxidase por litro. A solução permanece estável por 6 meses sob refrigeração (2-8°C).

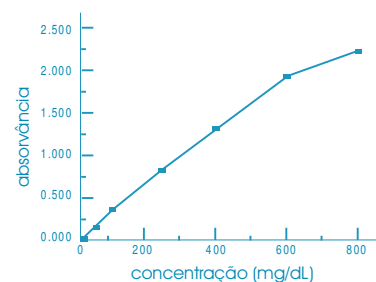
Rotular 3 tubos de ensaio com **B (branco)**, **T (teste)** e **P (padrão)**.

**Proceder como segue:**

	<b>B</b>	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Reagente de cor</b>	2,0mL	2,0mL	2,0mL
<b>Solução padrão</b>	-	-	20µL
<b>Amostra</b>	-	20µL	-

Misturar por agitação e incubar por 10 minutos em banho-maria, a 37°C. Retirar do banho-maria e fazer leitura das absorvâncias em **espectrofotômetro** ou **fotocolorímetro**, em **510nm** ou **filtro verde (490-540)**, zerando o aparelho com o **branco**. A cor final da reação permanece estável por 20 minutos, à temperatura ambiente (20 - 30°C).

## CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mg/dL)
1	0.000	0
2	0.161	50
3	0.324	100
4	0.805	250
5	1.300	400
6	1.940	600
7	2.200	800

**Obs.: Não utilizar esta curva para determinar o resultado de seu ensaio.**

• A curva de calibração é a representação gráfica entre os valores das absorvâncias com os valores das concentrações de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos para confeccioná-la: (1) preparo das soluções padrão; (2) medição dos valores de absorvância das soluções padrão, de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso, e (3) montagem de um gráfico em papel especial, linear, onde são relacionados os valores de absorvância com os de , conforme demonstrado na figura acima.

As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro "Ultrospec III", Pharmacia Biotec, comprimento de onda de 510nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.

- A curva de calibração demonstra a linearidade da reação até uma determinada concentração, na qual pode ser determinado um fator de calibração (F), de acordo com a Lei de Beer.
- **A reação é linear até 600mg/dL (ver curva acima). Obtendo-se valores mais elevados, dilui-se a amostra com solução fisiológica e procede-se à nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**
- **O kit de Glucox 500 Doles possui padrão no intervalo de linearidade da metodologia de Glicose Oxidase. O laboratório deve realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit e calcular seu fator de calibração (F), a exemplo do demonstrado nos cálculos abaixo.**
- **O fator deve ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.**
- Os padrões utilizados na montagem da curva de calibração foram preparados com produto de referência **D-Glucose \_ Standard Reference Material 917a \_ procedência NACIONAL INSTITUTE of STANDARDS & TECHNOLOGY (NIST)**.

## CÁLCULOS

$$\text{Glicose (mg/dL)} = \frac{\text{absorvância teste}}{\text{absorvância padrão}} \times 100$$

*Exemplo:*

*Leitura*

*Padrão: 0,324*

*Teste: 0,280*

$$\text{Glicose (mg/dL)} = \frac{0,280}{0,324} \times 100 = 86$$

Como a reação corada segue estritamente a lei de Beer, basta que se determine um **fator (F)** para cálculo dos resultados.

$$\text{Fator (F)} = \frac{100}{\text{absorvância padrão}}$$

$$\text{Glicose mg/dL} = \text{absorvância teste} \times F$$

Para obtenção do fator, recomenda-se dosar em triplicata o padrão, ler as absorvâncias e tirar a média aritmética das mesmas.

*Exemplo:*

*Leituras:*

*Padrão: 0,323; 0,325; 0,324*

$$\text{Média aritmética} = \frac{0,323 + 0,325 + 0,324}{3} = 0,324$$

$$\text{Fator (F)} = \frac{100}{0,324} = 308$$

*Leitura do teste: 0,280*

$$\text{Glicose (mg/dL)} = 0,280 \times 308 = 86$$

## EXPRESSÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

$$\text{Glicose (mmol/L)} = \text{Glicose (mg/dL)} \times 0,0555$$



## LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- A cafeína pode elevar os níveis de glicose.
- Algumas drogas como: antidepressivos tricíclicos, bloqueadores beta adrenérgicos, corticosteroides, diuréticos, estrógenos, glucagon, isoniazida, fenotiazinas, fenitoína e salicilatos, podem elevar o nível de glicose.
- Algumas drogas como: acetaminofeno, álcool, esteróides anabolizantes, insulina e inibidores da MAO, podem reduzir os níveis de glicose.
- Quando detectada hiperglicemia, recomenda-se investigação mais criteriosa, através de: dosagem de hemoglobina glicosilada, glicemia pós-prandial e, a critério médico, prova de tolerância oral à glicose.

## CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada na limpeza do material, no preparo dos reagentes e na dosagem, deve ser de boa qualidade.
3. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
4. As pipetagens devem ser precisas.
5. O nível da água do banho maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio. A temperatura (37°C) deve ser rigorosamente observada.
6. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).

## VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida.

Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

Plasma: (jejum de 8 horas) 70 - 99 mg/dL  
Líquor: 40 - 70 mg/dL

**Informações sobre os critérios para diagnóstico de diabetes podem ser obtidas no site da Sociedade Brasileira de Diabetes: [www.diabetes.org.br](http://www.diabetes.org.br).**

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A dosagem da glicose sanguínea é o teste bioquímico mais realizado em laboratório. **Suas alterações não são simples marcadores de doença, mas o reflexo de profundas alterações no meio ambiente biológico.** A quantificação da glicose no sangue reflete apenas o ponto de equilíbrio momentâneo entre sua produção, utilização e estocagem.

O Diabetes representa um grupo de distúrbios metabólicos onde a glicose, mal utilizada, resulta em hiperglicemia. Os números que indicam a incidência de diabetes no Brasil são desconhecidos, mas admite-se que 5% da nossa população seja portadora de diabetes em seus diversos níveis. Atualmente, distingue-se no diabetes duas variedades principais:

**Diabetes mellitus tipo 1 (IDDM- diabetes mellitus, insulino dependente).**

Deficiência de insulina (insulino dependentes). Há destruição de mais de 90% das células b das ilhotas de Langherans. Presença de anticorpos anti-insulina e anti-ilhotas de Langherans. Vírus e toxinas químicas são os prováveis agentes causais. Ocorre geralmente em jovens (abaixo dos 30 anos) e representa, aproximadamente, 10% dos diabéticos. As complicações são freqüentes.

**Diabetes mellitus tipo 2 (NIDDM- diabetes mellitus não dependente de insulina).**

Níveis variados de insulina. Ausência de anticorpos anti-insulina e anti-ilhotas. Em geral os pacientes são obesos, com a presença de componente familiar. Incidência maior a partir dos 40 anos.

Considere-se ainda:

**Diabetes mellitus secundária:** síndrome diabética secundária à pancreatite, síndrome de Cushing, feocromocitoma, insuficiência hepática grave, terapia por corticoides, etc..

**Diabetes mellitus gestacional:** diabetes que se exterioriza durante a gravidez.

**Tolerância de glicose alterada:** glicemia basal entre 110 e 140 mg/dL, com alterações de curva glicêmica, ainda não conclusiva, de diabetes.

**Grupos de risco:** pacientes com hiperglicemia transitória, espontânea ou secundária a estímulos. Irmão monozigótico de portador de diabetes tipo 2. Pessoas com histórico familiar de diabetes. Obesos e membros de grupos raciais ou étnicos com alta incidência de diabetes.

A hipoglicemia tem como causas principais: o excesso de insulina pancreática, hipotireoidismo, insuficiência supra renal, alcoolismo, uso não controlado de hipoglicemiantes orais, sendo ainda encontrada nas insuficiências hepáticas graves.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 41 testes em amostras cujo teor de glicose se situava no intervalo de 65 a 486mg/dL. Esses ensaios foram realizados em paralelo com uma metodologia de referência (glicose oxidase). A comparação da Glucox 500 (Y) com a metodologia mencionada (X) deu origem à seguinte equação de regressão linear:  $Y = 1,02X - 0,46$ , sendo o coeficiente de correlação 0,99.

Adição de glicose a 10 soros com níveis de glicemia oscilando entre 50 e 360mg/dL, mostraram índice de recuperação entre 97,5 e 102%.

O erro da média foi de 0,76%.

**Repetitividade:** foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 3 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	42,41	115,31	242,91
Desvio padrão	0,63	0,90	2,54
Coefficiente de variação (%)	1,49	0,78	1,05

**Reprodutibilidade:** foram realizadas 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	47,38	118,59	259,05
Desvio padrão	1,49	1,49	3,65
Coefficiente de variação (%)	3,14	1,25	1,41



**Especificidade:** o método da glicose oxidase é específico para glicose, não reagindo com outros açúcares como lactose, galactose, frutose ou com substâncias redutoras provenientes do metabolismo de medicamentos.

**Sensibilidade:** a absorvância encontrada, de 0,0035, corresponde a 1mg/dL de concentração de glicose, quando medida em espectrofotômetro, em 510nm. A sensibilidade do sistema está diretamente relacionada com a do aparelho utilizado no laboratório.

**Diluição da matriz:** estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que não há interferência na sensibilidade diagnóstica da presente metodologia de glicose oxidase.

**Substâncias interferentes:** soros lipêmicos, hemolizados e ictericos podem causar resultados falsamente elevados. Nesses casos, é recomendado que seja feito um branco da amostra (2,0mL do reagente de cor + 20µL do soro, leitura imediata). O uso de soros pode provocar valores falsamente diminuídos de glicose, quando não são separados em tempo hábil. Tal fato deve-se à presença de enzimas glicolíticas, degradantes da glicose. Para evitar tal ocorrência, recomenda-se a utilização de plasma colhido com fluoreto, o que irá impedir o fenômeno da glicólise. Certas drogas e outras substâncias podem afetar os valores da glicose (ver em limitações do sistema). Para controle de interferências, é recomendado que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos.

#### **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA**

- Trinder, P.: *Ann. clin. biochem.*, 6-24, 1969.
- D. Barham e P. Trinder: *Analyst* 97, 1972.
- Jacobs D.S.: Kasten B.L.: Dematt W.R., Walfson W.L.: *Laboratory test handbook*, 2ª ed, 113, 1990.
- Pagana, K.D.: *Mosby's diagnostic and laboratory test reference*, 379 - 381, 1992
- Cockayne, Susan: *Clinical chemistry: Concepts and applications*, 156-158, 1993.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995
- Henry, John Bernard: *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*, 19ª ed, 194-207, 423-426, 1996.
- Doles: dados de arquivo

#### **TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO**

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**. Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- 1.O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

**Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

#### **Elaborado e fabricado por:**

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro  
Caixa Postal 1051

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810011

Revisão: 13 (06/2009)

#### **NBR ISO 9001**

**Sistema da Qualidade  
certificado desde 1999**

