

Glucose HK Gen.3

Glicose hexoquinase, 3ª geração

Informações para encomenda

COBAS INTEGRA Glucose HK Gen.3	800 Testes	Ref. 04404483 190 System-ID 07 6831 6
Calibrator f.a.s.	12 × 3 mL	Ref. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (para EUA)	12 × 3 mL	Ref. 10759350 360 System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 × 5 mL	Ref. 10171743 122 System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 × 5 mL	Ref. 10171778 122 System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 × 3 mL	Ref. 12149435 122 System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 × 3 mL	Ref. 12149443 122 System-ID 07 8000 6

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizada a cassete

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Informações do sistema

COBAS INTEGRA Glucose HK Gen.3 (GLUC3).
Test GLUC3, test ID 0-031 (soro, plasma); test GLU3U, test ID 0-141 (urina); test GLU3C, test ID 0-051 (LCR).

Função

Teste para determinação quantitativa in vitro da concentração de glicose em soro, plasma, urina e no líquido cefalorraquidiano (LCR) humanos, utilizando os sistemas COBAS INTEGRA.

Sumário^{1,2,3}

A glicose é o principal hidrato de carbono presente no sangue periférico. A oxidação da glicose constitui a principal fonte de energia celular do organismo. A glicose proveniente da dieta é convertida em glicogénio, para armazenamento no fígado, ou em ácidos gordos, para armazenamento no tecido adiposo. A concentração de glicose no sangue é mantida dentro de limites estreitos por acção de muitas hormonas, sendo as mais importantes produzidas pelo pâncreas.

A causa mais frequente de hiperglicemia é a diabetes mellitus, originada por um défice da secreção ou da acção da insulina. Vários factores secundários contribuem também para a existência de níveis elevados de glicose no sangue. Entre estes incluem-se a pancreatite, a disfunção da tiróide, a insuficiência renal e hepatopatias.

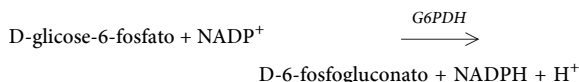
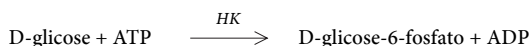
A hipoglicemia observa-se com menos frequência. São várias as doenças que podem originar uma diminuição dos níveis de glicose no sangue. Entre estas conta-se o insulínoma, o hipopituitarismo e a hipoglicemia induzida por insulina.

As determinações de glicose são utilizadas no diagnóstico e tratamento de perturbações do metabolismo dos hidratos de carbono, incluindo a diabetes mellitus e a hipoglicemia idiopática. A determinação da glicose na urina é utilizada como procedimento de despiste da diabetes e como auxiliar na avaliação da glicosúria, para detectar defeitos tubulares renais, e no controlo da diabetes mellitus. A determinação de glicose no líquido cefalorraquidiano é utilizada na avaliação da meningite, do envolvimento neoplásico das meninges e de outras perturbações neurológicas.

Princípio do teste

Método enzimático de referência com hexoquinase.^{4,5}

A hexoquinase (HK) catalisa a fosforilação da glicose pelo ATP, dando origem a glicose-6-fosfato e ADP. Para prosseguir a reacção, uma segunda enzima, a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) é utilizada para catalisar a oxidação de glicose-6-fosfato pelo NADP⁺, dando origem ao NADPH.



A concentração de NADPH formado é directamente proporcional à concentração de glicose. É determinada medindo o aumento da absorvância a 340 nm.

Reagentes – soluções de trabalho

Componentes	Concentrações			Teste
	R1	R2 = SR		
MES	5,0		0,70	mmol/L
ATP	≥4,5		≥0,63	mmol/L
Mg ⁺⁺	24	4,0	3,5	mmol/L
NADP	≥7,0		≥0,98	mmol/L
HEPES		200	10	mmol/L
HK (levedura)		≥300	≥15	μkat/L (≥0,9 kU/L)
G6PDH (microbiana)		≥300	≥15	μkat/L (≥0,9 kU/L)
pH	6,0	8,0	7,6	

Avisos e precauções

Preste atenção a todos os avisos e precauções incluídos na Introdução do Manual de Métodos, Capítulo 1.

Preparação dos reagentes

Pronto a ser utilizado.

INTEGRA 400/700/800

Armazenamento e estabilidade

Validade a 2-8°C	Ver o prazo de validade no reagente
Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus	
No analisador a 10-15°C	8 semanas
Analísadores COBAS INTEGRA 700/800	
No analisador a 8°C	8 semanas

Colheita e preparação das amostras

Para colheita e preparação das amostras utilize apenas tubos ou cuvetes de amostra apropriados.

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Soro.

Plasma: Plasma tratado com heparina-Li, EDTA-K₂, -K₃ ou fluoreto.

Soro, plasma

Colha o sangue em jejum por punção venosa utilizando um sistema de tubos sob vácuo. A estabilidade da glicose nas amostras é afectada pela temperatura de armazenamento, pela contaminação bacteriana e pela glicólise. As amostras de plasma ou soro sem conservantes deverão ser separadas das células ou do coágulo na primeira meia hora após a colheita. Quando o sangue é colhido e deixado a coagular à temperatura ambiente sem ser centrifugado, a diminuição média da glicose sérica é ~7% em 1 hora (0,28 a 0,56 mmol/L ou 5 a 10 mg/dL). Esta diminuição deve-se à glicólise. A glicólise pode ser inibida colhendo a amostra em tubos com fluoreto de sódio.¹

Estabilidade (sem hemólise):⁵ 8 horas a 20-25°C
72 horas a 4-8°C

Estabilidade no plasma com fluoreto:⁵ 24 horas a 20-25°C

Urina

Colha a urina num frasco escuro. No caso das colheitas da urina de 24 horas, a glicose pode ser conservada adicionando previamente ao recipiente 5 mL de ácido acético glacial. As amostras de urina não conservadas podem perder até 40% de glicose após 24 horas de conservação à temperatura ambiente.³ Por esta razão, mantenha as amostras em gelo durante a colheita.⁵

LCR

O líquido cefalorraquidiano pode ser contaminado por bactérias e contém frequentemente outros constituintes celulares. Por conseguinte, para determinar a glicose, as amostras de LCR deverão ser imediatamente analisadas ou armazenadas a 4°C ou -20°C.^{3,5}

Os tipos de amostras indicados foram testados usando tubos de colheita de amostras seleccionados e comercialmente disponíveis à data do teste, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes, que em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Quando utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter instruções mais específicas sobre o ensaio feito neste analisador.

Aplicações para soro, plasma, urina e LCR**Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	340/652 nm
Primeiro/último cálc.	33/69
Unidade	mmol/L

Parâmetros de pipetagem

		Diluyente (H ₂ O)
R1	28 µL	125 µL
Amostra	2 µL	16 µL
SR	10 µL	20 µL
Volume total	201 µL	

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	340/652 nm
Primeiro/último cálc.	44/98
Unidade	mmol/L

Parâmetros de pipetagem

		Diluyente (H ₂ O)
R1	28 µL	125 µL
Amostra	2 µL	16 µL
SR	10 µL	20 µL
Volume total	201 µL	

Calibração

Calibrador	Calibrador f.a.s. Utilize água desionizada como calibrador zero.
Modo de calibração	Regressão linear
Repetição da calibração	Duplicado recomendado
Intervalo de calibração	Cada lote e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo de qualidade

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra a ID/MS.⁶
a) Diluição isotópica e espectrometria de massas

Controlo da qualidade

Controlo de qualidade para soro e para plasma	
Intervalo de referência	Precinorm U ou Precinorm U plus
Intervalo patológico	Precipath U ou Precipath U plus
Controlo de qualidade para urina	
	Para o controlo da qualidade em rotina, recomendam-se controlos quantitativos de urina.
Controlo de qualidade para LCR	
	Para o controlo de qualidade em rotina, recomendam-se controlos quantitativos do LCR.
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Sequência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

Para o controlo de qualidade, utilize os materiais de controlo indicados na secção "Informações para encomenda". Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo dos resultados

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a concentração do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analisador COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Factor de conversão: $\text{mmol/L} \times 18,02 = \text{mg/dL}$

Limitações - Interferências⁶

Critério: Recuperação dentro de $\pm 10\%$ do valor inicial.

Soro, plasma

Icterícia	Sem interferência significativa até a um índice I de 60 (concentração aproximada de bilirrubina conjugada e não conjugada: 60 mg/dL ou 1.026 $\mu\text{mol/L}$). ^b
Hemólise	Nenhuma interferência significativa até a um índice H de 1.200 (concentração aproximada de hemoglobina: 1.200 mg/dL ou 744 $\mu\text{mol/L}$). ^b
Lipemia	Nenhuma interferência significativa até a um índice L de 1.900. Existe uma correlação fraca entre o índice L (corresponde à turbidez) e a concentração de triglicéridos. ^b
Outras	Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstrom), pode produzir resultados pouco fiáveis. As concentrações terapêuticas de tetraciclina em amostras de urina produzem resultados falsos baixos.

b) Medida com uma concentração de glicose de 3,5 mmol/L

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição

0,12-40 mmol/L (2,16-720 mg/dL)

Intervalo de medição alargado (calculado)

Factor pós-diluição: 10 (recomendado)

0,12-400 mmol/L (2,16-7.200 mg/dL)

Limite de detecção inferior

0,12 mmol/L (2,16 mg/dL)

O limite de detecção inferior representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado 3 desvios padrão (DP) acima de uma amostra zero (amostra zero + 3 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Valores de referência

Plasma⁷

Em jejum 3,88-6,38 mmol/L (70-115 mg/dL)

Urina⁸

1ª urina da manhã 0,3-1,1 mmol/L (6-20 mg/dL)

Urina de 24 horas 0,3-0,96 mmol/L (6-17 mg/dL)
(média de 1.350 mL de urina/24 h)

de acordo com Tietz.⁵

Soro, plasma

Adultos	4,11-5,89 mmol/L	(74-106 mg/dL)
60-90 anos	4,56-6,38 mmol/L	(82-115 mg/dL)
>90 anos	4,16-6,72 mmol/L	(75-121 mg/dL)
Crianças	3,33-5,55 mmol/L	(60-100 mg/dL)
Recém-nascidos (1 dia)	2,22-3,33 mmol/L	(40-60 mg/dL)
Recém-nascidos (>1 dia)	2,78-4,44 mmol/L	(50-80 mg/dL)

Urina

Urina de 24 horas	<2,78 mmol/24 h	(<0,5 g/24 h)
Urina espontânea	0,06-0,83 mmol/L	(1-15 mg/dL)

LCR

Crianças	3,33-4,44 mmol/L	(60-80 mg/dL)
Adultos	2,22-3,89 mmol/L	(40-70 mg/dL)

Os valores de glicose no LCR deverão ser aprox. 60% dos valores no plasma e devem ser sempre comparados com os valores determinados concomitantemente no plasma para uma interpretação clínica adequada.

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores de referência para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Dados específicos sobre o desempenho para soro e plasma (GLUC3)

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio n = 21, inter-ensaio n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio			Inter-ensaio		
	Média mmol/L	Média mg/dL	CV %	Média mmol/L	Média mg/dL	CV %
Nível I	4,48	80,7	0,41	4,44	80,0	1,09
Nível II	12,48	225	0,47	12,46	225	0,90

Comparação dos métodos

Foram comparados os valores de glicose em amostras de soro humano obtidos num analisador COBAS INTEGRA 800 com o teste COBAS INTEGRA Glucose HK Gen. 3 (GLUC3) e aqueles obtidos por GC ID-MS. O tamanho da amostra (n) representa todas as réplicas.

Analisador COBAS INTEGRA 800

Tamanho da amostra (n) = 56

Passing/Bablok⁹

$y = 0,974x + 0,13$ mmol/L

$\tau = 0,951$

DP (md 95) = 0,22

Regressão linear

$y = 0,974x + 0,12$ mmol/L

$r = 1,00$

$Sy.x = 0,11$

Os valores variaram entre 3,63 e 31,06 mmol/L (65,4 a 560 mg/dL).

Foram comparados os valores de glicose em amostras de soro humano obtidos num analisador COBAS INTEGRA 800 com o teste COBAS INTEGRA Glucose HK Gen. 3 (GLUC3) e aqueles obtidos com a cassette COBAS INTEGRA Glucose HK Liquid (GLUCL) num analisador COBAS INTEGRA 800. O tamanho da amostra (n) representa todas as réplicas.

INTEGRA 400/700/800

Analisador COBAS INTEGRA 800

Tamanho da amostra (n) = 59

Passing/Bablok⁹

$$y = 0,971x + 0,19 \text{ mmol/L}$$

$$\tau = 0,986$$

$$DP (\text{md } 95) = 0,10$$

Regressão linear

$$y = 0,969x + 0,21 \text{ mmol/L}$$

$$r = 1,00$$

$$Sy.x = 0,05$$

Os valores variaram entre 3,61 e 11,33 mmol/L (65,1 a 204 mg/dL).

Dados específicos sobre o desempenho para a urina (GLU3U)**Precisão**

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas num protocolo interno (intra-ensaio n = 21, entre dias n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio			Inter-ensaio		
	Média mmol/L	Média mg/dL	CV %	Média mmol/L	Média mg/dL	CV %
Nível I	0,83	15,0	1,35	0,84	15,1	0,75
Nível II	2,42	43,6	0,64	2,43	43,8	0,83

Comparação dos métodos

Foram comparados os valores de glicose em amostras de urina humana obtidos num analisador COBAS INTEGRA 800 com o teste COBAS INTEGRA Glucose HK Gen. 3 (GLUC3) e aqueles obtidos por GC ID-MS. O tamanho da amostra (n) representa todas as réplicas.

Analisador COBAS INTEGRA 800

Tamanho da amostra (n) = 64

Passing/Bablok⁹

$$y = 0,998x + 0,01 \text{ mmol/L}$$

$$\tau = 0,951$$

$$DP (\text{md } 95) = 0,28$$

Regressão linear

$$y = 0,979x + 0,05 \text{ mmol/L}$$

$$r = 1,00$$

$$Sy.x = 0,12$$

Os valores variaram entre 0,03 e 38,49 mmol/L (0,5-694 mg/dL).

Dados específicos sobre o desempenho para LCR (GLU3C)**Precisão**

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (Intra-ensaio, n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio		
	Média mmol/L	Média mg/dL	CV %
Nível I	3,20	57,7	1,13
Nível II	9,31	168	1,49

Comparação dos métodos

Foram comparados os valores de glicose em LCR humano obtidos num analisador COBAS INTEGRA 800 com o teste COBAS INTEGRA Glucose HK Gen.3 (GLUC3) com aqueles obtidos utilizando a cassete da geração prévia COBAS INTEGRA Glucose HK *New Formulation* (GLUC2). O tamanho da amostra (n) representa todas as réplicas.

Analisador COBAS INTEGRA 800

Tamanho amostra (n) = 79

Passing/Bablok⁹

$$y = 0,999x + 0,01 \text{ mmol/L}$$

$$\tau = 0,931$$

$$DP (\text{md } 95) = 0,16$$

Regressão linear

$$y = 0,996x - 0,00 \text{ mmol/L}$$

$$r = 0,996$$

$$Sy.x = 0,08$$

Os valores variaram entre 1,25 e 11,27 mmol/L (22,5 a 203 mg/dL).

Bibliografia

1. Sacks DB. Carbohydrates. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders 1996:351-374.
2. Knudson PE, Weinstock RS. Carbohydrates. In: Henry JB, ed. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20th ed. Philadelphia: WB Saunders 2001:211-223.
3. Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1999:750-785.
4. Kunst A, Draeger B, Ziegenhorn J. In Bergmeyer. *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed. Volume VI, *Metabolites 1: Carbohydrates*. 1984:163-172.
5. Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1995:268-273.
6. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474
7. Thomas L, ed. *Labor und Diagnose*, 4th ed. Marburg: Die medizinische Verlagsgesellschaft 1992.
8. Krieg M et al. Vergleichende quantitative Analytik klinisch-chemischer Kenngrößen im 24-Stunden-Urin und Morgenurin. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986;24:863-869.
9. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790

© 2006 Roche Diagnostics.



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

