

Frutosamina

Kit para determinação da frutossamina por metodologia cinética-colorimétrica.

REF. 462

MS 80022230089



Analisa

MÉTODO

Cinético-Colorimétrico.

FINALIDADE

Reagentes para determinação da frutossamina (glicoproteínas ou proteínas glicadas) no soro.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Quando a glicose se une às proteínas, o produto final é uma cetosamina estável, denominada genericamente de glicoproteína ou frutossamina. Em pH alcalino, a glicoproteína se transforma na forma enólica, reduzindo o azul de nitrotetrazólio a um "formazan" púrpura. A velocidade de formação do formazan em uma determinada temperatura é proporcional à concentração sérica de proteínas glicadas.

O método utiliza a medida da diferença de absorvância após incubação aos 10 e 15 minutos para calcular concentração de glicoproteína ou frutossamina na amostra. Os resultados são expressos em mmol/L de DMF (1-Desoxi-1-morfolinofrutose), utilizado como padrão primário.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Assim como ocorre com a hemoglobina glicada, a frutossamina é decorrente de uma modificação não enzimática pós translacional, dependente dos valores de glicemia. O mesmo ocorre com a glicação de outras proteínas plasmáticas.

O mecanismo de formação da proteína glicada é semelhante ao da hemoglobina glicada, havendo somente diferenças na cinética de formação e na meia vida.

A meia vida das proteínas varia entre 1 a 3 semanas, ao contrário da hemoglobina cuja meia vida é de 120 dias. É de se esperar portanto que, enquanto o valor da hemoglobina glicada reflete o controle de glicemia nos 2 meses anteriores ao teste, a proteína glicada pode espelhar as concentrações de glicose plasmática nos 20 dias anteriores.

Frutossamina é um nome genérico dado à todas proteínas glicadas (glicoproteínas), das quais a maior parcela é devida a albumina, que se constitui na maior massa protéica plasmática depois da hemoglobina.

A frutossamina está elevada em todos os casos de diabetes sob controle metabólico inadequado e tem sido observado que os valores retornam aos níveis de referência 20 dias após a estabilização da glicemia em níveis adequados.

Quando se observa a perda do controle glicêmico, a resposta da frutossamina, com elevação de valores ocorre praticamente concomitante a hiperglicemia, retornando entretanto aos valores de referência 3 semanas após a resposta ao tratamento.

A frutossamina permite classificar os pacientes diabéticos em 3 grupos distintos: controle satisfatório até 3,2 mmol/L, controle medíocre até 3,7 mmol/L e controle inadequado maior que 3,7 mmol/L.

O teste não sofre interferências de medicamentos (com exceção do ácido ascórbico), alimentação, glicemia do momento e não se observam diferenças significativas entre homens e mulheres.

Valores diminuídos são observados em pacientes com perdas elevadas de albumina e/ou doenças que aumentam o catabolismo protéico.

O teste não deve ser usado para rastreio de intolerâncias latentes à glicose devido à sua pequena sensibilidade em relação ao teste oral de tolerância à glicose.

QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO

- Metodologia cinética colorimétrica de 2 pontos facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- Fornece os resultados de glicoproteína (frutossamina) com excelente correlação com a glicemia de jejum e também com a hemoglobina glicada total.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

1. **Padrão** - Soro humano liofilizado. A concentração vem indicada no rótulo do frasco, expressa em mmol/L de DMF (desoxi morfolino frutose).
2. **Reagente de Cor** - Contém tampão carbonato pH 10,35 200 mmol/L e azul de nitrotetrazólio (NBT) 250 mmol/L.

PREPARO DO PADRÃO

Reconstituir o Padrão (1) liofilizado de Frutossamina com 1,0 mL de água deionizada. Agitar suavemente e deixar em repouso por 30 minutos antes de utilizar. A solução, se for mantida ao abrigo da luz, é estável durante 15 dias entre 2-8 °C ou por 45 dias se conservado em alíquotas a -20 °C.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados em temperatura entre 2-8 °C, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

1. A presença de partículas, turbidez e absorvância do Branco em 530nm, acima de 0,065 indicam deterioração do Reagente de Cor (2).
2. Ausência de material liofilizado e umidade indicam deterioração do Padrão..
3. O Padrão (1) e O Reagente de Cor (2) devem ser conservados ao abrigo da luz entre 2-8 °C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura em 530 ± 20 nm);
- Tubos e pipetas;
- Banho-Maria ou Termostatizador;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Os reagentes são fotosensíveis, conserva-los ao abrigo da luz.
- O Padrão (1) foi testado para anticorpos anti-HCV, anti-HIV e antígeno HBsAg e apresentou resultado negativo. No entanto, deve ser tratado com precaução, como potencialmente infectante. Manusear e descartar segundo as normas de biossegurança.
- Todo o material contaminado deve ser autoclavado por 1 hora a 120 °C ou deixado em solução de hipoclorito de sódio a 10% por 1 hora.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Recomendamos o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como avental, óculos de segurança, luvas descartáveis e outros que se fizerem necessários para a realização do teste.
- Não deve ser utilizada a boca para pipetagem de reagentes, amostra ou qualquer outra substância.
- Aconselhamos não pipetar diretamente do frasco do Reagente de Cor (2) para evitar contaminação.
- Em caso de acidentes tomar as medidas cabíveis de primeiros socorros.

AMOSTRA

SORO. Não usar amostras hemolisadas.

O analito é estável 7 dias entre 2-8 °C ou 2 meses a -20 °C.

Amostras fortemente lipêmicas devem ser diluídas 1:2 com NaCl 0,9 g% e o resultado obtido multiplicado por 2.

Se houver suspeita da presença de ácido ascórbico, deixar a amostra em repouso durante 90 minutos antes de iniciar a dosagem.

NOTA: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas em Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

- Equipamento: Espectrofotômetro
- Leitura: Comprimento de onda 530 nm
- Temperatura: 37 °C
- Medida: contra água destilada

B. Técnica de Análise

1. Deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes da realização do teste.
2. Pipetar

Tubos	Teste	Padrão
Reagente de Cor (2)	1000 µL	1000 µL
Amostra	50 µL	----
Padrão (1)	----	50 µL

3. Misturar bem. Incubar imediatamente a 37 °C. Acionar o cronômetro.

4. Ler as absorvâncias do Teste e do Padrão em 530 nm após exatamente 10 minutos, acertando o Zero com água destilada (A₁₀).

5. Continuar a incubação por exatamente mais 5 minutos e determinar as absorvâncias do Teste e do Padrão contra água destilada (A₁₅).

C. Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

Calcular as diferenças de absorvâncias do Teste e do Padrão: $\Delta A = A_{15} - A_{10}$
Cp = Concentração do padrão indicada no rótulo do frasco

Exemplo

At = Absorvância do Padrão

Ap = Absorvância do Padrão

Cp = Concentração do Padrão em uso = 2,3 mmol/L

Absorvâncias do Teste: A₁₀ = 0,301 A₁₅ = 0,387

ΔA do Teste = 0,387 - 0,301 = 0,086

Absorvâncias do Padrão: A₁₀ = 0,319 A₁₅ = 0,420

ΔA do Padrão = 0,420 - 0,319 = 0,101

Frutossamina (mmol/L) = FC x ΔA do Teste

Frutossamina = 22,77 x 0,086 = 1,96 mmol/L em DMF.

$$F_c = \frac{C_p}{\Delta A \text{ Padrão}} = \frac{2,3}{0,101} = 22,77$$

Atenção

- Esta técnica de dosagem é adequada para fotômetros cujo volume mínimo de solução para a leitura é igual ou menor do que 1000 µL.
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos. Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

VALORES DE REFERÊNCIA**Soro**

- 1,9 a 2,9 mmol/L em DMF
- 205 a 285 µmol/L em albumina glicada

Para converter os resultados de mmol/L de DMF para µmol/L de albumina glicada, multiplicar os resultados por 121. Exemplo: 1,96 (mmol/L de DMF) x 121 = 237 (µmol/L de albumina glicada).

Os valores de referência de frutossamina dependem da concentração de albumina na amostra. Em crianças, as concentrações são ligeiramente inferiores (5%).

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos. O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve ter implementado um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com os princípios das Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC).

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle com valores estabelecidos pelos fabricantes.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO¹⁰**Linearidade**

A reação é linear até 7,0 mmol/L de DMF (800 µmol/L de albumina glicada). Para valores maiores, diluir a amostra a 1/2 com água deionizada e repetir a determinação. Multiplicar o resultado final por 2.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 3,9 mmol/L e 5,7 mmol/L. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,7 e 2,5%, respectivamente.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 3,9 mmol/L e 5,7 mmol/L. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 4,3 e 4,0%, respectivamente.

Limite de Detecção

LD = 0,14 mmol/L de DMF ou 16 µmol/L de albumina glicada.
O intervalo de medida é de 0,14 mmol/L até 7,0 mmol/L de DMF ou de 16 a 800 µmol/L de albumina glicada.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 79 amostras de soro humano com valores desconhecidos. Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com uma equação de regressão linear onde $y = 0,983x + 2$.

Interferências

A bilirrubina até 20 mg/dL, a lipemia (triglicérides até 1000 mg/dL) e a hemólise (hemoglobina até 1000 mg/dL) não interferem. Alguns medicamentos e substâncias podem interferir⁵.

OBSERVAÇÕES

- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baker JL, et al; Clin Chem 1985;31:1550-1554.
- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4ª Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
- Dolhofer R, Wieland OH. FEBS Letters 1979;103:282-286.
- Hurst PL. Clin Chem 1987; 33:1947
- Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR. Clin Chim Acta 1982; 127:87-95.
- Lloyd D, Marples J. Clin Chem 1984;30:1686-1688.
- San-Gil F, Schier GM, Moses RG, Gan IET. Clin Chem 1985; 31:2005-2006.
- Smid E, Ferencz A, Fodor M. Clin Chim Acta 1986; 156: 215-220.
- Van Diejen-Visser MP et al. Clin Chem 1986; 32:1610.
- GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Nº de Testes	Reagentes	Volume
462M	50	Padrão	1 x 1 mL
		Reagente de Cor	1 x 50 mL
462	100	Padrão	2 x 1 mL
		Reagente de Cor	2 x 50 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO**Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor**

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto
Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230089
Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421
Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888
Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020
Home page: www.goldanalisa.com.br
E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br
Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por
	Risco Biológico		Liofilizado

Revisão: 04/19