

Προβλεπόμενη χρήση

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκόζης σε ορό. Μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση. **Rx Only**

Κλινική σημαντικότητα

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της γλυκόζης στον ορό εκτελείται τις περισσότερες φορές για τη διάγνωση και τη θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη.

Σύνοψη εξέτασης

Οι πρώτες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της γλυκόζης χρησιμοποιούσαν οξειδάση της γλυκόζης για την κατάλυση της οξειδωσης της γλυκόζης σε υπεροξειδίου του υδρογόνου και γλυκονικό οξύ.¹ Το υπεροξειδίου του υδρογόνου που σχηματίζεται μετράται με την οξειδωση ενός χρωμογόνου.² Είχαν διερευνηθεί πολλά χρωμογόνα, λόγω πιθανής καρκινογένεσης, τοξικότητας, αστάθειας ή επειδή ήταν επιρρεπείς σε πολλές παρεμβαλλόμενες ουσίες. Ο Tinder³ προποτίωσε τη μέθοδο του Emerson⁴ για να δημιουργήσει ένα αποδοτικό σύστημα υπεροξειδάσης-φαινόλ-αμινοφαιναζίνης για την ποσοτικοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου μέσω του σχηματισμού μιας κόκκινης χρωστικής κινονιμίνης. Η μέθοδος επηρεάζεται λιγότερο από παρεμβαλλόμενες ουσίες και δεν έχει τα πολλά μειονεκτήματα των προγενέστερων μεθόδων.

Αρχή της διαδικασίας



Η γλυκόζη οξειδώνεται από την οξειδάση της γλυκόζης σε γλυκονικό και υπεροξειδίου του υδρογόνου. Η φαινόλη + 4-AAP + υπεροξειδίου του υδρογόνου, παρουσία υπεροξειδάσης, παράγει μια χρωστική κινονιμίνη που μετράται στα 500 nm. Η απορρόφηση στα 500 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο δείγμα.

Σύσταση αντιδραστηρίου

Οξειδάση της γλυκόζης (μικροβιακή) 12,000 u/L, υπεροξειδάση (χρένου) > 1,000 u/L, 4-AAP >0,3 mM, φαινόλη 4 mM, ρυθμιστικό διάλυμα, pH 7,4 ± 0,1, μη αντιδρώντες σταθεροποιητές, συντηρητικά. Βλ. "Προφυλάξεις".

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Το αντιδραστήριο είναι έτοιμο για χρήση.

Αποθήκευση και σταθερότητα αντιδραστηρίου

1. Το αντιδραστήριο πρέπει να φυλάσσεται υπό ψύξη σε θερμοκρασία 2-8°C.
2. Το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό μέχρι την ενδεικνυόμενη ημερομηνία λήξης όταν φυλάσσεται σύμφωνα με τις οδηγίες.

Προφυλάξεις

1. Το αντιδραστήριο προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
2. Το αντιδραστήριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται αν παρουσιάζει θολρότητα ή άλλες ενδείξεις μικροβιακής ανάπτυξης.
3. Το αντιδραστήριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται αν δεν πληροί τις αξιώσεις γραμμικότητας ή σε περίπτωση μη ανάκτησης των τιμών μάρτυρα στο αναφερόμενο εύρος.
4. Όλα τα δείγματα και οι μάρτυρες πρέπει να αντιμετωπίζονται ως πιθανώς μολυσματικοί παράγοντες και ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται με ασφαλείς εργαστηριακές διαδικασίες. (NCCLS M29-T2).⁵

Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

1. Συνιστάται η χρήση μη αιμολυμένου ορού ή ηπαρισμένου πλάσματος
2. Ο ορός πρέπει να διαχωρίζεται αμέσως από τον θρόμβο καθώς ο ρυθμός της μείωσης της γλυκόζης είναι περίπου 7% ανά ώρα στο ολικό αίμα.⁶
3. Η γλυκόζη στον ορό είναι σταθερή για είκοσιτέσσερις ώρες όταν φυλάσσεται υπό ψύξη (2-8°C).
4. Τα δείγματα πρέπει να συλλέγονται σύμφωνα με το έγγραφο NCCLS H4-A3.⁷

Αλληλεπιδράσεις

1. Τα δείγματα που παρουσιάζουν έντονη αιμόλυση ενδέχεται να οδηγήσουν σε ψευδώς ανεβασμένες τιμές γλυκόζης.
2. Επίπεδο χολερυθρίνης 20 mg/dL και αιμοσφαιρίνης 500 mg/dL έχουν βρεθεί να παρουσιάζουν αμελητέα παρεμβολή (< 3%) σε αυτή τη δοκιμασία προσδιορισμού. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το επίπεδο γλυκόζης ήταν 184 mg/dL για τη μελέτη χολερυθρίνης και 188 mg/dL για τη μελέτη αιμοσφαιρίνης.
3. Οι Young, et al⁸ έχουν δημοσιεύσει μια πλήρη λίστα των παρεμβαλλόμενων ουσιών.

Παρεχόμενα υλικά

Αντιδραστήριο γλυκόζης.

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

1. Συσκευές αναρρόφησης με πιπέτα ακριβείας (1,0 mL και 10 uL)
2. Δοκιμαστικά σωληνάρια
3. Χρονόμετρο (για τη μέτρηση των δέκα λεπτών)
4. Φασματοφωτόμετρο με δυνατότητα ανάγνωσης στα 500 nm
5. Μονάδα θέρμανσης (37°C)
6. Μάρτυρες ορού με γνωστές φυσιολογικές και μη φυσιολογικές τιμές γλυκόζης

Διαδικασία (Αυτοματοποιημένη-Γενική)

Μήκος κύματος:	500 nm
Τύπος δοκιμασίας προσδιορισμού:	Τελικό σημείο
Αναλογία δείγματος/αντιδραστηρίου:	1:101
Κατεύθυνση αντίδρασης:	Αυξανόμενο
Θερμοκρασία:	37°C
Χρόνος επίωσης:	600 δευτερόλεπτα
Φυσιολογική χαμηλή τιμή:	70 mg/dL
Φυσιολογική υψηλή τιμή:	105 mg/dL

Διαδικασία (χειροκίνητη)

1. Τοποθετήστε στα δοκιμαστικά σωληνάρια ετικέτες "τυφλό", "μάρτυρας", "πρότυπο", "ασθενής", κ.λπ.
2. Προσθέστε με πιπέτα 1,0 mL αντιδραστηρίου εργασίας σε όλα τα σωληνάρια και τοποθετήστε τα σε λουτρό στους 37°C για τουλάχιστον πέντε λεπτά.
3. Προσθέστε 0,01 mL (10 uL) δείγματος στα αντίστοιχα σωληνάρια. Αναμείξτε και επώστε στους 37°C για δέκα λεπτά.
4. Μετά την επίωση, μηδενίστε το φασματοφωτόμετρο με το τυφλό αντιδραστήριο. Διαβάστε και καταγράψτε τις τιμές απορρόφησης όλων των σωληναρίων στα 500 nm (500-520 nm).
5. Για τον καθορισμό των αποτελεσμάτων, βλ. την ενότητα "Υπολογισμοί".

Περιορισμοί

1. Το αντιδραστήριο δίνει γραμμικά αποτελέσματα σε εύρος 0-500 mg/dL. Τα δείγματα που υπερβαίνουν τα 500 mg/dL πρέπει να αραιώνονται με ίσο όγκο φυσιολογικού ορού και να υποβάλλονται εκ νέου σε δοκιμασία προσδιορισμού. Πολλαπλασιάστε το αποτέλεσμα επί δύο.
2. Εάν στο φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιείται απαιτείται τελικός όγκος μεγαλύτερος από 1,0 mL για την ορθή μέτρηση, χρησιμοποιήστε 0,03 mL (30 uL) δείγματος σε 3,0 mL αντιδραστηρίου. Εκτελέστε την εξέταση όπως περιγράφεται παραπάνω.
3. Τυχόν λιπαιμικό δείγμα μπορεί να δώσει ψευδώς ανεβασμένα αποτελέσματα. Για διόρθωση για λιπαιμία πρέπει να γίνει ανάλυση ενός τυφλού ορού. Τυφλό ορού: Προσθέστε 0,01 mL (10 uL) δείγματος σε 1,0 mL νερού. Μηδενίστε το φασματοφωτόμετρο με νερό. Διαβάστε και καταγράψτε την απορρόφηση και αφαιρέστε τη μέτρηση από την απορρόφηση της εξέτασης. Εκτελέστε τους συνήθεις υπολογισμούς.

Βαθμονόμηση

Χρησιμοποιήστε ένα πρότυπο γλυκόζης ιχνηλάσιμο με τη μέθοδο NIST (100 mg/dL) ή έναν βαθμονομητή ορού. Η διαδικασία πρέπει να βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις οδηγίες βαθμονόμησης του κατασκευαστή του οργάνου. Αν τα αποτελέσματα του μάρτυρα βρεθούν εκτός εύρους, η διαδικασία πρέπει να βαθμονομηθεί εκ νέου.

ΣΕΤ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ Pointe Glucose (Oxidase)

Υπολογισμοί

Abs. = Απορρόφηση

$$\frac{\text{Abs. (Ασθενής)}}{\text{Abs. (Τυπικό)}} \times \text{Συγκέντρωση} = \text{Γλυκόζη (mg/dL)}$$

Παράδειγμα:

Abs. (Ασθενής) = 0,300

Abs. (Πρότυπο) = 0,200

Συγκέντρωση προτύπου = 100 mg/dL

$$\text{Τότε: } \frac{0,300}{0,200} \times 100 = 150 \text{ mg/dL}$$

Μονάδες SI

Για να λάβετε αποτελέσματα σε μονάδες SI (mmol/L), πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα σε mg/dL επί δέκα για να μετατρέψετε τα dL σε λίτρα και διαιρέσετε την τιμή με το 180, το μοριακό βάρος της γλυκόζης.

$$\text{mg/dL} \times \frac{10}{180} = \text{mg/dL} \times 0,0556$$

Παράδειγμα: 150 mg/dL x 0,0556 = 8,34 mmol/L

Ποιοτικός έλεγχος

Πρέπει να αναλύονται τακτικά μάρτυρες ορού με γνωστές φυσιολογικές και μη φυσιολογικές τιμές γλυκόζης για την παρακολούθηση της εγκυρότητας της αντίδρασης. Οι μάρτυρες αυτοί πρέπει να υποβάλλονται σε ανάλυση τουλάχιστον σε κάθε βάρδια στην οποία διενεργούνται δοκιμασίες προσδιορισμού γλυκόζης. Οι τιμές μάρτυρα πρέπει να βρίσκονται μέσα στα καθορισμένα εύρη για τους συγκεκριμένους μάρτυρες που χρησιμοποιούνται. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει τη δική του συχνότητα προσδιορισμού με μάρτυρες.

Αναμενόμενες τιμές⁹

70-105 mg/dL

Συνιστάται αυστηρά κάθε εργαστήριο να καθορίζει το δικό του εύρος φυσιολογικών τιμών.

Επίδοση

- Εύρος δοκιμασίας προσδιορισμού: 0-500 mg/dL
- Συσχέτιση: Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με αυτό το αντιδραστήριο (y) σε 132 δείγματα, με εύρος συγκέντρωσης γλυκόζης 32-297 mg/dL, συγκρίθηκαν με το αποτέλεσμα που ελήφθη στα ίδια δείγματα με αντιδραστήριο ξηρής σκόνης (x) βάσει της ίδιας μεθοδολογίας σε αυτοματοποιημένο αναλυτή. Ο συντελεστής συσχέτισης ήταν 0,999, ενώ η εξίσωση παλινδρόμησης ήταν $y = 1,02x - 1,13$. (Sy-x=15,43)
- Ακρίβεια: Οι μελέτες ακρίβειας εκτελέστηκαν με τη χρήση αυτοματοποιημένου αναλυτή βάσει μιας τροποποίησης των κατευθυντηρίων οδηγιών που περιέχονται στο έγγραφο NCCLS EP5-T2.¹⁰

Εντός της ανάλυσης			Ημερησίως		
Μέση τιμή	S.D.	C.V.%	Μέση τιμή	S.D.	C.V.%
101	1,1	1,1	86	2,1	2,5
172	1,3	0,7	198	6,3	3,2
293	3,9	1,3	283	9,2	3,3

- Ευσαιθησία: Η ευαισθησία για το αντιδραστήριο Glucose (Oxidase) διερευνήθηκε με μέτρηση της μεταβολής στην απορρόφηση στα 500 nm για ένα δείγμα φυσιολογικού ορού και για έναν ορό με γνωστή συγκέντρωση. Πραγματοποιήθηκαν δέκα επαναλήψεις από κάθε δείγμα. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας κατέδειξαν ότι, στον αναλυτή που χρησιμοποιήθηκε, το αντιδραστήριο Glucose (Oxidase) μικρή ή καθόλου απόκλιση του αντιδραστήριου σε μηδενικό δείγμα. Υπό τις συνθήκες αντίδρασης που περιγράφηκαν, 1 mg/dL γλυκόζης δίνει απορρόφηση 0,002.

Βιβλιογραφία

- Keston, A.S., Abstr., 129th Meeting Amer. Chem. Soc., p 31 (1956).
- Teller, J.D., Abstr., 130th Meeting Amer. Chem. Soc., Atlantic City, N.J., p 69c (1956).
- Trinder, P., Ann. Clin. Biochem. 06:24 (1969).
- Emerson, E.J., et al., J. Org. Chem. 3:153 (1938) and 8:417 (1943).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 243 (1976).
- Έγγραφο NCCLS "Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", 3rd Ed. (1991).
- Young, D.S., et al. Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p 155 (1970).
- Έγγραφο NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Υπόμνημα συμβόλων

Χρήση έως (EEEE-MM-HH)	Παρτίδα και κωδικός παρτίδας
Αριθμός καταλόγου	Κατασκευαστής
In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	Όρια θερμοκρασίας
Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης	Rx Only: Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
Σήμανση CE	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα

G7521 Παρασκευάζεται από την HORIBA Instruments Incorporated 5449 Research Drive Canton, MI 48188 2°C - 8°C

Παρασκευάζεται από την HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BE/ΓΙΟ
Τηλ.: (32)2.732.59.54 Φαξ (32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Αντιδραστήρια πιστοποιημένα ως προς την απόδοση

Τα αντιδραστήρια της Pointe είναι πιστοποιημένα για παρασκευή σύμφωνα με καθορισμένες παραμέτρους. Οποιοδήποτε προϊόν αντιδραστήριου της Pointe δεν πληροί τις προδιαγραφές έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης του θα αποκαθίσταται αμέσως χωρίς χρέωση.

Αναθ. 04/22 P803-G7521-01