

## Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania glukozy w surowicy. Wyłącznie do diagnostyki in vitro. **Rx Only**

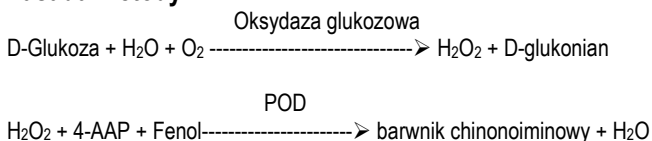
## Znaczenie kliniczne

Oznaczanie glukozy w surowicy jest najczęściej wykonywane w diagnostyce i leczeniu cukrzycy.

## Streszczenie

Wczesne enzymatyczne metody oznaczania glukozy wykorzystywały oksydazę glukozową do katalizowania utleniania glukozy do nadtlenu wodoru i kwasu glukonowego.<sup>1</sup> Powstający nadtlenek wodoru jest mierzony na podstawie utleniania chromagenu.<sup>2</sup> Zbadano wiele chromagenów, ale wiele z nich odrzucono ze względu na możliwe rakotwórczości, toksyczności, niestabilności lub z powodu wpływu wielu substancji zakłócających. Trinder<sup>3</sup> zmodyfikował Emerson<sup>4</sup> w celu opracowania wydajnego układu peroksydaza-fenol-aminofenazon do ilościowego oznaczania nadtlenu wodoru przez sformułowanie czerwonego barwnika chinonoiminowego. Ta metoda jest mniej podatna na wpływ substancji zakłócających i nie ma wielu wad wcześniejszych metod.

## Zasada metody



Glukoza jest utleniana przez oksydazę glukozową do glukonianu i nadtlenu wodoru. Fenol + 4-AAP + nadtlenek wodoru, w obecności peroksydazy, wytwarza barwnik chinonoiminowy, który mierzy się przy długości fali 500 nm. Absorbancja przy 500 nm jest proporcjonalna do stężenia glukozy w próbce.

## Skład odczynnika

Oksydaza glukozowa (drobnoustrojowa) 12 000 j./l, Peroksydaza (chrzanowa) > 1 000 j./l, 4-AAP > 0,3 mM, Fenol 4 mM, Bufor, pH 7,4 ± 0,1, stabilizatory niereaktywne, środek konserwujący. Zobacz „Środki ostrożności”.

## Przygotowanie odczynnika

Odczynnik jest gotowy do użycia.

## Przechowywanie i stabilność odczynnika

- Odczynnik należy przechowywać w lodówce w temperaturze 2-8°C.
- Odczynnik jest stabilny do wskazanej daty ważności, jeśli jest przechowywany zgodnie z zaleceniami.

## Środki ostrożności

- Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.
- Odczynnik nie należy używać, jeśli wykazuje zmętnienie lub inne oznaki rozwoju drobnoustrojów.
- Odczynnik nie należy używać, jeśli nie spełnia wymagań dotyczących liniowości lub nie odzyskuje wartości kontrolnych w podanym zakresie.
- Wszystkie próbki i kontrole należy traktować jako potencjalnie zakażne, stosując bezpieczne procedury laboratoryjne. (NCCLS M29-T2).<sup>5</sup>

## Pobieranie i przechowywanie próbek

- Zalecana jest niezhemolizowana surowica lub heparynizowane osocze
- Surowicę należy szybko oddzielić od skrzepu, ponieważ tempo spadku glukozy we krwi pełnej wynosi około 7% na godzinę.<sup>6</sup>
- Glukoza w surowicy jest stabilna przez dwadzieścia cztery godziny, jeśli jest przechowywana w lodówce (2-8°C).
- Próbki należy pobierać zgodnie z dokumentem NCCLS H4-A3.7

## Interferencje

- Wyraźnie lipemiczne próbki mogą powodować fałszywie podwyższone wartości glukozy.
- Stwierdzono, że bilirubina do poziomu 20 mg/dl i hemoglobina do poziomu 500 mg/dl wykazują znikomą interferencję (<3%) w tym teście. UWAGA: Poziom glukozy wynosił 184 mg/dl w badaniu bilirubiny i 188 mg/dl w badaniu hemoglobiny.
- Young i in.<sup>8</sup> opublikowali obszerną listę substancji zakłócających.

## Materiały wymagane

Glucose reagent.

## Materiały wymagane, niedostarczane

- Precyzyjne urządzenia do pipetowania (1,0 ml i 10 ul)
- Probówki
- Minutnik (do odmierzenia dziesięciu minut)
- Spektrofotometr z możliwością odczytu przy długości fali 500 nm
- Blok grzewczy (37°C)
- Surowice kontrolne ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami glukozy

## Procedura (Ogólna automatyczna)

Długość fali:	500 nm
Typ reakcji:	Punkt końcowy
Stosunek próbka/odczynnik:	1:101
Kierunek reakcji:	Rosnąca
Temperatura:	37°C
Czas inkubacji:	600 sekund
Niski wartość prawidłowa:	70 mg/dl
Wysoka wartość prawidłowa:	105 mg/dl

## Procedura (Manualna)

- Oznacz próbki napisem „puste”, „kontrolne”, „standardowe”, „pacjent” itp.
- Odpipetować 1,0 ml odczynnika roboczego do wszystkich probówek i umieścić w łaźni grzewczej o temperaturze 37°C na co najmniej pięć minut.
- Dodać 0,01 ml (10 ul) próbki do odpowiednich probówek. Wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez dziesięć minut.
- Po inkubacji wyzerować spektrofotometr ze ślepą próbą odczynników. Odczytać i zapisać absorbancje wszystkich probówek przy 500nm (500-520nm).
- Aby określić wyniki, patrz rozdział „Obliczenia”.

## Ograniczenia

- Odczynnik daje wyniki liniowe w zakresie 0-500 mg/dl. Próbkę, które przekraczają 500 mg/dl, należy rozcieńczyć taką samą objętością soli fizjologicznej i ponownie oznaczyć. Pomnóż wynik przez dwa.
- Jeśli używany spektrofotometr wymaga końcowej objętości większej niż 1,0 ml do dokładnego odczytu, użyj 0,03 ml (30 ul) próbki na 3,0 ml odczynnika. Wykonaj test w sposób opisany powyżej.
- Próbka lipemiczna może dawać fałszywie zawyżone wyniki. Aby skorygować lipemię, należy przeprowadzić ślepą próbę surowicy. Ślepa próba surowicy: Dodać 0,01 ml (10 ul) próbki do 1,0 ml wody. Spektrofotometr zerowy z wodą. Odczytaj i zapisz absorbancję i odejmij odczyt od absorbancji testu. Oblicz jak zwykle.

# Point Glucose (Oxidase) Reagent Set

## Kalibracja

Użyj wzorca glukozy zgodnego z NIST (100 mg/dl) lub kalibratora surowicy. Procedurę należy skalibrować zgodnie z instrukcjami kalibracji producenta przyrządu. Jeśli wyniki kontroli okażą się poza zakresem, procedurę należy ponownie skalibrować.

## Obliczenia

Abs. = Absorbancja

$$\frac{\text{Abs. (Pacjent)}}{\text{Abs. (Standard)}} \times \frac{\text{Stężenie Standardu (mg/dl)}}{\text{Stężenie Standardu (mg/dl)}} = \text{Glucose (mg/dl)}$$

Przykład:

$$\text{Abs. (Pacjent)} = 0.300$$

$$\text{Abs. (Standard)} = 0.200$$

$$\text{Stężenie Std.} = 100 \text{ mg/dl}$$

$$\text{Później: } \frac{0.300}{0.200} \times 100 = 150 \text{ mg/dl}$$

## Jednostki SI

Aby uzyskać wyniki w jednostkach SI (mmol/l), pomnóż wyniki w mg/dl przez dziesięć, aby przeliczyć dl na litr i podziel wartość przez 180, masę cząsteczkową glukozy.

$$\text{mg/dl} \times \frac{10}{180} = \text{mg/dl} \times 0.0556$$

$$\text{Przykład: } 150 \text{ mg/dl} \times 0.0556 = 8.34 \text{ mmol/L}$$

## Kontrola jakości

Kontrolne surowicy ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami glukozy powinny być rutynowo oznaczane w celu monitorowania ważności reakcji. Kontrole te należy przeprowadzać co najmniej podczas każdej zmiany roboczej, podczas której wykonywane są oznaczenia glukozy. Wartości kontrolne powinny mieścić się w ustalonych zakresach dla poszczególnych stosowanych kontroli. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli.

## Wartości oczekiwane <sup>9</sup>

70-105mg/dl

Stanowczo zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres normy.

## Charakterystyka

- Zakres testu: 0 - 500 mg/dl
- Korelacja: Wyniki uzyskane z tym odczynnikiem (y) w 132 próbkach, w zakresie stężenia glukozy od 32-297 mg/dl, porównano z wynikami uzyskanymi w tych samych próbkach przy użyciu odczynnika w postaci suchego proszku (x) opartego na tym samym metodologię na automatycznym analizatorze. Współczynnik korelacji wyniósł 0,999, a równanie regresji  $y=1,02x - 1,13$ . (Sy-x=15,43)
- Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono na automatycznym analizatorze po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.<sup>10</sup>

W serii			Całkowita		
Średnia	S.D.	C.V.%	Średnia	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

- Czułość: Czułość dla odczynnika glukozy (oksydazy) badano poprzez odczyt zmiany absorbancji przy 500 nm dla próbki soli fizjologicznej i surowicy o znanym stężeniu. Wykonano dziesięć powtórzeń każdej próbki. Wyniki tego badania wykazały, że w używanym analizatorze odczynnik glukozowy (oksydaza) wykazywał niewielki dryf odczynnika lub nie wykazywał go wcale na próbce zerowej. W opisanych warunkach reakcji 1 mg/dl glukozy daje absorbancję 0,002.

## Piśmiennictwo

- Keston, A.S., Abstr., 129<sup>th</sup> Meeting Amer. Chem. Soc., p 31 (1956).
- Teller, J.D., Abstr., 130<sup>th</sup> Meeting Amer. Chem. Soc., Atlantic City, N.J., p 69c (1956).
- Trinder, P., Ann. Clin. Biochem. 6:24 (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", 2<sup>nd</sup> Ed. (1991).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 243 (1976).
- NCCLS document "Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", 3<sup>rd</sup> 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).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

## Symbol

Zużyć do (RRRR-MM-DD)	Numer LOT
Numer katalogowy	Producent
Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	<b>Rx Only:</b> Wyłącznie do profesjonalnego użytku
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europę

G7521	Wyprodukowano przez HORIBA Instruments Incorporated 5449 Research Drive Canton, MI 48188		2°C - 8°C	
-------	--	--	-----------	--

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

## Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane do produkcji zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.