

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

REF № HP009.02

ТУ У 24.4-24607793-020-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ГЛЮКОЗИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ГЛЮКОЗООКСИДАЗНИМ МЕТОДОМ

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір застосовують для визначення концентрації глюкози у цільній крові (плазмі), сироватці крові та сечі людини в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **50 макро-, 100 напівмікро- чи 200 мікрОВИЗНАЧЕНЬ** (сумарний об'єм робочого розчину 200 мл) з **урахуванням холостих та калібрувальних проб** (Див. **Примітку 4**).

Діапазон визначаємих концентрацій - від 0,056 ммоль/л до 25 ммоль/л або від 10 мг/л до 4500 мг/л.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяця від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* професійно навченим лаборантом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично.

СКЛАД НАБОРУ

- Ензими (розчин) - 1 флакон з (100 ± 2) мл або 2 флакони по (50 ± 2) мл;
 - пероксидаза (2200 ± 220) У/л;
 - β,D-глюкозооксидаза (18000 ± 1800) У/л;
 - 4-амінофеназон (110 ± 11) мг/л;
 - стабілізатори, активатори.
- Буферний розчин - 1 флакон з (100 ± 2) мл або 2 флакони по (50 ± 2) мл;
 - фосфатний буфер (рН 7,2 - 7,4) (0,10 ± 0,01) моль/л,
 - фенол (190 ± 19) мг/л;
 - стабілізатори.
- Антикоагулянт - 1 флакон або пакет;
- Калібрувальний розчин глюкози ((10,0 ± 0,5) ммоль/л або (1802 ± 90) мг/л) - 1 ампула з (5,0 ± 0,5) мл.

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі (500-550) нм в діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 5 мм або 10 мм.
- Водяний термостат або автоматична водяна баня, здатні підтримувати температуру (плюс 37 ± 1) °С (у випадку проведення аналізу при цій температурі) (можливо використання сухоповітряного термостата з механічною циркуляцією повітря).
- Колба мірна місткістю 200 мл, колба місткістю 500 мл, пробірки місткістю 20 мл (ГОСТ 1770-74).
- Піпетки місткістю 0,1 і 5 мл (ГОСТ 29227-91).

ЗРАЗОК ДЛЯ АНАЛІЗУ

Сироватка, плазма (гепаринізована, ЕДТО, оксалатна, фторидна), сеча.

Концентрація глюкози стабільна протягом 24 годин при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С, за умови, що сироватка або плазма приготвлені не пізніше 30 хв після забору крові. Якщо вміст глюкози в сироватці крові або плазмі вище 25 ммоль/л, її необхідно розбавити фізіологічним розчином у 5 разів і повторити дослідження. При високому вмісті глюкози у сечі останню необхідно розбавити в 50 разів. **Примітка:** сироватку з високим вмістом білірубину необхідно попередньо депротейнувати (ТХО, із постановкою відповідного холостого досліду).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Розчин АНТИКОАГУЛЯНТУ. Вміст флакону або пакету з антикоагулянтом кількісно переносять до мірної колби на **200 мл**, доводять розчин до мітки *дистильованою водою*. Отриманий розчин переносять у *поліетиленову ємність* місткістю **500 мл**. В ту саму мірну колбу на **200 мл** наливають до мітки *дистильованої води*. Об'єднують цей розчин з розчином у ємності місткістю **500 мл**. Ретельно перемішують. Готовий розчин стійкий не менше 1 місяця при температурі від 0 °С до плюс 8 °С.

Для приготування **МОНОРЕАГЕНТУ** на глюкозу змішують **Буферний розчин** і **Ензими** в співвідношенні 1:1 (**рекомендується притримуватися обговореного порядку змішування розчинів**). Отриманий розчин стійкий не менше 2 тижнів при збереженні в ємності з темного скла і температурі від плюс 20 °С до плюс 25 °С або 1 місяця при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С. При збереженні розчину допускається зміна його забарвлення до слабо-рожевого кольору, що на результатах аналізів не позначається.

Для використання набору у варіанті **БІРЕАГЕНТУ** розчини готові до використання і стабільні до закінчення гарантійного терміну придатності (при дотриманні умов зберігання, зазначених на упаковці).

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: «Ліонорм» (Чехія), «Біоконт С» (Росія), „ФілоНорм” або „ФілоПат” (Україна).

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди вище 1,25 г/л), гемоліз (гемоглобін вище 5 г/л), білірубін вище 100 мг/л впливають на результат визначення.

На хід визначення також можуть робити вплив деякі ліки і речовини (наприклад: ацетамінофен, N-ацетилцістеїн (НАС), метамізол приводять к одержанню фальшиво занижених результатів, левдопа).³⁾

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Буферний розчин включає фенол (отруйна речовина).

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. СИРОВАТКА або ПЛАЗМА КРОВІ, СЕЧА

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1.

Таблиця 1

Варіант аналізу з використанням МОНОРЕАГЕНТУ						
Відміряти у пробірку, мл	Калібр. або дослідна проба			Холоста проба		
	Макро	Напів-мікро	Мікро	Макро	Напів-мікро	Мікро
Калібрувальний або аналізуємий розчин	0,04	0,02	0,01	-	-	-
Фізіологічний розчин	-	-	-	0,04	0,02	0,01
Монореагент	4,00	2,00	1,00	4,00	2,00	1,00
Варіант аналізу з використанням БІРЕАГЕНТУ						
Калібрувальний або аналізуємий розчин	0,04	0,02	0,01	-	-	-
Фізіологічний розчин	-	-	-	0,04	0,02	0,01
Буферний розчин	2,00	1,00	0,50	2,00	1,00	0,50
Ензими	2,00	1,00	0,50	2,00	1,00	0,50

В обох випадках змішати, витримати **20 хв** при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С), або **12 хв** при температурі плюс 37 °С. Вимірюють оптичну щільність калібрувальної ($E_{\text{кал}}$) та дослідної проби ($E_{\text{досл}}$) **проти холостої проби**. Забарвлення стабільне протягом **(60±2) хв**.
Фотометрування – див. розділ “Обладнання”.

2. ЦІЛЬНА КРОВ з використанням стабілізатора.

0,1 мл цільної капілярної крові змішують з **0,9 мл Розчину антикоагулянту** та центрифугують **10 хв** при 2000 об/хв або **5 хв** при 3000 об/хв для осадження еритроцитів. Для аналізу використовують надосадову рідину.

Калібрувальний розчин глюкози розбавляють у 10 разів (0,1 мл калібрувального розчину глюкози 10 ммоль/л змішують із 0,9 мл фізіологічного розчину).

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 2.

Таблиця 2

Варіант аналізу з використанням МОНОРЕАГЕНТУ						
Відміряти у пробірку, мл	Калібр. або дослідна проба			Холоста проба		
	Макро	Напів-мікро	Мікро	Макро	Напів-Мікро	Мікро
Розведений калібрувальний розчин або надосадова рідина	0,40	0,20	0,10	-	-	-
Фізіологічний розчин	-	-	-	0,40	0,20	0,10
МОНОРЕАГЕНТ	4,00	2,00	1,00	4,00	2,00	1,00
Варіант аналізу з використанням БІРЕАГЕНТУ						
Розведений калібрувальний розчин або надосадова рідина	0,40	0,20	0,10	-	-	-
Фізіологічний розчин	-	-	-	0,40	0,20	0,10
Буферний розчин	2,00	1,00	0,50	2,00	1,00	0,50
Ензими	2,00	1,00	0,50	2,00	1,00	0,50

В обох випадках змішати, витримати **20 хв** при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С), або **12 хв** при температурі плюс 37 °С. Вимірюють оптичну щільність калібрувальної ($E_{\text{кал}}$) та дослідної проби ($E_{\text{досл}}$) **проти холостої проби**. Забарвлення стабільне протягом **(60±2) хв**.
Фотометрування – див. розділ «Обладнання».

РОЗРАХУНОК КОНЦЕНТРАЦІЇ ГЛЮКОЗИ

Розрахунок концентрації глюкози проводять за формулою (1):

$$C = \frac{E_{\text{досл.}}}{E_{\text{кал.}}} \times K \times 10\{(180)\} \text{ де} \quad (1)$$

C - концентрація глюкози в дослідній пробі, ммоль/л (мг/дкл);

10 (180) - концентрація глюкози в калібрувальному розчині, ммоль/л (мг/дкл);

$E_{\text{досл}}$ - оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{кал}}$ - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності.

K - коефіцієнт розведення.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ ⁴⁾

У сироватці, плазмі крові:

- кров з пуповини - (2,5 - 5,3) ммоль/л;

- недоношені - (1,1 - 3,3) ммоль/л;

- новонароджені - (1,7 - 3,3) ммоль/л;

- діти - (3,3 - 5,6) ммоль/л;

- дорослі 12-60 років - (4,1 - 5,9) ммоль/л;

- дорослі 60-90 років - (4,6 - 6,4) ммоль/л;

У цільної крові: - (3,5 - 5,3) ммоль/л;

У сечі: - (0,1 - 0,8) ммоль/л.

Дані величини орієнтовні, рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Глюкоза є головним джерелом енергії в організмі. Інсулін, що виробляється острівковими клітинами підшлункової залози, полегшує проникнення глюкози в клітини тканин.

Підвищення концентрації глюкози у сироватці або плазмі: Первинне: Цукровий діабет (дорослих і дітей). Фізіологічне: Енергійні фізичні вправи, сильні емоції, викид адреналіну при ін'єкціях, шоці, опіках, інфекції. Ендокринні захворювання: Феохромоцитома, тиреотоксикоз, акромегалія, гігантизм, синдром Кушинга, глюкагонома, соматостатинома. **Захворювання підшлункової залози:** Гострий і хронічний панкреатит, панкреатит при паротиті, муковісцидозі, гемохроматозі, пухлина підшлункової залози. **Пов'язане з іншими захворюваннями:** Крововилив у мозок, гострий інфаркт міокарду або тяжка стенокардія, хронічні захворювання печінки, хронічні захворювання нирок. **Пов'язане з антитілами до інсулінових рецепторів:** Acanthosis nigricans. **Дефіцит вітаміну В1:** Енцефалопатія Вернике.

Гіпоглікемія: Захворювання підшлункової залози: Пухлина острівкових клітин, дефіцит глюкагона. **Пухлини:** Рак наднирника, рак шлунку, фібросаркома. **Тяжкі захворювання печінки.**

Отруєння (напр., миш'яком, тетрахлоридом вуглецю, хлороформом, цинхофеном, фосфором, алкоголем, саліцилатами, фенформіном, антигістамінними препаратами). **Ендокринні захворювання:** Гіпопітуїтаризм, хвороба Аддісона, гіпотиреоз. **Функціональні порушення:** Постгастроентеромічні синдроми, гастроентеростомія, ураження вегетативної нервової системи. **У дітей:** Недоношеність; діти, народжені від матерів, хворих цукровим діабетом; кетотична гіпоглікемія, синдром Цеттерстрома, ідіопатична чутливість до лейцину. **За захворювання, пов'язані з дефіцитом ферментів:** синдром Гірке, галактоземія, "хвороба кленового сиропу", порушення толерантності до фруктози.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ПРИМІТКИ

1. При серійних визначеннях сечі на глюкозу можливо провести якісний скринінг. Для цього до лунки імунологічного планшету вносять по 0,002 мл сечі та додають 0,1 мл МОНОРЕАГЕНУ. Відсутність розвитку забарвлення протягом однієї хвилини свідчить про відсутність глюкози у даному зразку сечі. Зразки сечі, що дали позитивну реакцію на глюкозу, підлягають кількісному аналізу при розведенні в 50 разів.

2. Концентрація глюкози в артеріальній крові вище, ніж у венозній.

3. Для проб натщесерце необхідне голодування протягом 6 - 8 год.

4. Розраховано при витраті розчинів реагентів 1,0 мл (мікро-), 2,0 мл (напівмікро-), 4,0 мл (макро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:

МОНОРЕАГЕНТ : Аналізуємий розчин = 100 : 1

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	<i>Глюкоза Ф</i>
Тип аналізатора(напівавтомат/автомат)	будь-який
Метод виміру	КТ
Зміна оптичної щільності	Збільшується
Довжина хвилі, нм	500 (500-550)
Вимір проти	Холостої проби
Температура реакції, °С	37
Чинник	-
Концентрація стандарту	10
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	500 : 500 : 100
Кількість вимірів, не менше	1
Час передінкубації, с	-
Час реакції, с	720
Одиниці виміру	ммоль/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	2,0
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	0,00
Максимально допустиме $\Delta E/xv$, А	-
Межі лінійності	0,056 - 25
Максимум норми	6,11
Мінімум норми	4,22
Підтвердження лінійності (так/ні)	ні

УТИЛІЗУВАННЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і спільно з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ЛІТЕРАТУРА

1. Barham D. and Trinder P., Analyst 97 (1972) p. 142-145.
2. Teuscher A. and Richterich P., Schweiz med. Wschr. 101 (1971) p. 345 and 390.
3. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Press, 1997.
4. Энциклопедия клинических лабораторных тестов под ред. Н.У.Тица, перевод под ред. В.В.Меньшикова, Москва, "Лабинформ", стр. 160-161 (1997)



ТОВ НВП «Фелісіт-Діагностика»,

Україна, 49051 Дніпропетровськ, вул. Каштанова, 32

Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34

Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54

E-mail: felicit_d@ua.fm <http://www.felicit.com.ua>