

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

Код за НК 024:2023 – **53301**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

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, сечі та спинномозковій рідині (СМР) людини в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований (з **урахуванням холостих та калібрувальних проб**) на відповідну кількість визначень глюкози (Див. **Примітку 4**):

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>HP009.05</u>	1000	500	250	<u>HP009.08</u>	500	250	125
<u>HP009.06</u>	200	100	50	<u>HP009.09</u>	100	50	25
<u>HP009.07</u>	400	200	100	<u>HP009.10</u>	2000	1000	500

Діапазон визначаємих концентрацій - від 1 ммоль/л до 20 ммоль/л або від 180 мг/л до 3600 мг/л.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Чутливість ⁵ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,02 ммоль/л (510 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

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

1. Монореагент
 - пероксидаза (1100 ± 110) У/л;
 - β,D-глюкозооксидаза (9000 ± 900) У/л;
 - 4-амінофеназон (55 ± 5) мг/л;
 - фосфатний буфер (рН 7,2 - 7,4) (0,10 ± 0,01) моль/л;
 - фенол (190 ± 19) мг/л;
 - стабілізатори, активатори.
2. Калібрувальний розчин глюкози
 - ((10,0 ± 0,5) ммоль/л або (1802 ± 90) мг/л).
3. Антикоагулянт

HP009.05 - 1 пляшка з (1000 ± 20) мл;

HP009.06 - 2 флакони по (100 ± 2) мл
або 4 флакони по (50 ± 2) мл;

HP009.07 - 4 флакони по (100 ± 2) мл;

HP009.08 - 5 флаконів по (100 ± 2) мл;

HP009.09 - 1 флакон з (100 ± 2) мл
або 2 флакони по (50 ± 2) мл;

HP009.10 - 2 пляшки по (1000 ± 20) мл;

HP009.05 - 2 ампули по (5,0 ± 0,5) мл.

HP009.06 - **HP009.09** - 1 ампула з (5,0 ± 0,5) мл

HP009.10 - 4 ампули по (5,0 ± 0,5) мл.

HP009.05 - 3 пакети або флакони.

HP009.08 - 2 пакети або флакони.

HP009.06, **HP009.07**, **HP009.09** - 1 пакет або флакон.

HP009.10 - 5 пакетів або флаконів.

ОБЛАДНАННЯ

1. 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 (Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача).
2. Водяний термостат або автоматична водяна баня, здатні підтримувати температуру (плюс 37 ± 1) °С.
3. Колба мірна місткістю 200 мл, колба місткістю 500 мл, пробірки місткістю 20 мл (згідно з чинними нормативними документами).
4. Піпетки місткістю 0,1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **09.02.2024**

Набори повинні транспортуватися при температурі від + 2 °С до + 25 °С усіма видами критичного транспорту. Допускається транспортування при температурі до + 25 °С до 3-ох діб.

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 приготувані не пізніше 30 хв після забору крові. Якщо вміст глюкози в сироватці крові або плазмі вище 20 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).

СМР. Досліджувати негайно, щоб уникнути хибно низьких результатів. Зберігати при температурі мінус 20 °С ⁴.

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 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.

МОНОРЕАГЕНТ готовий до використання та стабільний до закінчення гарантійного терміну придатності (при дотриманні умов зберігання, вказаних на упаковці). **Не тримати на світлі!** При зберіганні розчину допускається зміна його забарвлення до слабо-рожевого кольору, що на результатах аналізів не позначається. Величина оптичної щільності **МОНОРЕАГЕНТУ** проти дистильованої води, при довжині хвилі 500 нм, не повинна перевищувати **0,2**.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: Diacon N, Diacon P (Австрія), TruLab N, TruLab P (Німеччина), "ФілоНорм" або „ФілоПат” (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

УТИЛІЗАЦІЯ

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

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

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 впливати деякі ліки і речовини (наприклад: ацетамінофен, N-ацетилцістеїн (NAC), метамізол **приводять к одержанню фальшиво занижених результатів**, левдопа)³.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. СИРОВАТКА КРОВІ, СЕЧА, СМР

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

Таблиця 1

Відміряти у пробірку, мл	Калібр. або дослідна проба			Холоста проба		
	Макро	Напівмікро	Мікро	Макро	Напівмікро	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
Змішати, витримати 25 хв при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С) або 15 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 (30±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

Відміряти у пробірку, мл	Калібр. або дослідна проба			Холоста проба		
	Макро	Напівмікро	Мікро	Макро	Напівмікро	Мікро
Розведений калібрувальний розчин або надосадова рідина	0,40	<i>0,20</i>	0,10	-	-	-
Фізіологічний розчин	-	-	-	0,40	<i>0,20</i>	0,10
МОНОРЕАГЕНТ	4,00	<i>2,00</i>	1,00	4,00	<i>2,00</i>	1,00
В обох випадках змішати, витримати 25 хв при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С) або 15 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 (30±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.

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	Глюкоза Ф
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)	1000 : 10
Кількість вимірів, не менше	1
Час передінкубації, с	-
Час реакції, с	900
Одиниці виміру	ммоль/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	2,0
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	0,00
Максимально допустиме $\Delta E/\text{хв}$, А	-
Межі лінійності	1 - 20
Максимум норми	5,9
Мінімум норми	4,1
Підтвердження лінійності (так/ні)	ні

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 Верніке.

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 Цеттерстрорма, ідіопатична чутливість до лейцину. **Захворювання, пов'язані з дефіцитом ферментів:** синдром Гирке, галактоземія, "хвороба кленового сиропу", порушення толерантності до фруктози.

СМР. Підвищення концентрації глюкози: діабетична гіперглікемія, епідеміологічний енцефаліт, сифілітичне ураження ЦНС, підвищення глюкози в сироватці. **Зниження концентрації глюкози:** Субарахноїдальний крововилив, бактеріальний менінгоенцефаліт (легке); менінгіт: гострий гнійний, туберкульозний, криптококовий; первинний амебний менінгоенцефаліт, енцефаліт при паротиті, первинна або метастатична пухлина м'якої мозкової оболонки, саркоїдоз.

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

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.

У СМР:

- діти	- (3,3 - 4,4) ммоль/л;
- дорослі	- (2,2 - 3,9) ммоль/л;

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

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 МОНОРЕАГЕНТУ. 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 раз.
2. Концентрація глюкози **в артеріальній крові** вище, ніж у венозній.
3. Для проб натщесерце необхідне голодування протягом 6 - 8 год.
4. **Розраховано при витраті розчину реагенту 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

ЛИТЕРАТУРА

1. Barham D. and Trinder P., Analyst в 97 (1972) г. 142-145.
2. Teuscher A. and Richterich P., Schweiz med. Wschr. в 101 (1971) г. 345 and 390.
3. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
4. Энциклопедия клинических лабораторных тестов под ред. Н.У.Тица, перевод под ред. В.В.Меньшикова, Москва, "Лабинформ", стр. 160-162 (1997)
5. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філіцит-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, 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: filicit@ukr.net **http://www.felicit.com.ua**