



### Інструкція

з використання набору реагентів для визначення кількості глюкози в сироватці, плазмі крові, сечі та спинномозковій рідині

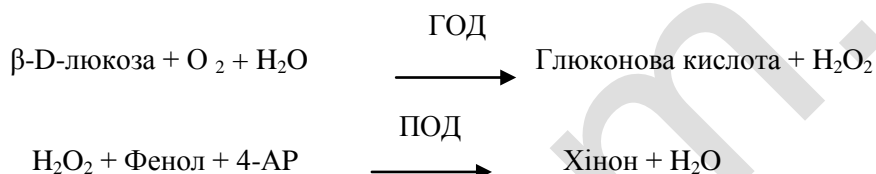
## ГЛЮКОЗА СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

#### Принцип методу

Глюкозооксидаза (ГОД, GOD) каталізує окислення глюкози до глюконової кислоти. Утворений пероксид водню ( $H_2O_2$ ) реагує з фенолом та 4-амінофеназоном (4-AP) в присутності пероксидази (ПОД, POD) і утворює хіноновий комплекс червоного кольору.



Інтенсивність забарвлення комплексу пропорційна концентрації глюкози в зразку.

#### Клінічне значення

Глюкоза є основним джерелом енергії для більшості клітин організму. Інсулін сприяє надходженню глюкози в клітини. Гіперглікемія є показником захворювання на діабет. У пацієнтів хворих на діабет виникають деякі проблеми з синтезом інсуліну.

Клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

#### Склад набору

- Реагент 1.** Буфер: трис рН 7.4 - 92 ммоль/л; фенол – 0.3 ммоль/л; глюкозооксидаза - 1500 Од/л; пероксидаза - 1000 Од/л; 4-амінофеназон – 2.6 ммоль/л.
- Стандарт.** Водний розчин глюкози – 10.0 ммоль/л.
- Антикоагулянт.**
- Інструкція з використання.
- Паспорт.

#### Аналітичні характеристики

- Лінійність вимірювального діапазону: 1 - 30 ммоль/л. Концентрат 25x: натрій хлористий - 4.2 г, натрій фтористий – 0.11 г, ЄДТА – 0.2 г. Відхилення від лінійності не перевищує 5%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 г/л та помножте результат на 2.
- Чутливість не менш 0.5 ммоль/л.
- Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

#### Матеріал для дослідження

- Сироватка, плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові.
- Венозна або капілярна кров. Використовуйте антикоагулянти такі, як гепарин або оксалат натрію.
- Сеча. При високому вмісті глюкози в сечі, останню потрібно перед дослідженням розвести в 50 раз та отриманий результат помножити на коефіцієнт розведення.

**Прим:** Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків. Зразки стабільні протягом 3 днів при 2-8°C, якщо вони були приготовлені не пізніше 30 хв. після забору крові

### Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 505 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Загальне лабораторне обладнання.

**Прим:** Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

### Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

**P1 і Стандарт** готові до використання.

**Антикоагулянт.** Розчиніть концентрат антикоагулянту у 500 мл дистильованої води. Готовий розчин стійкий протягом 1 міс.

### Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 505 нм (490-550 нм)  
 кювета з товщиною оптичного шару 1 см  
 температура 37°C/ 15-25°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

| Дослідження сироватки крові, сечі                  |                 |                    |                  |
|--|-----------------|--------------------|------------------|
|  | Холостий зразок | Стандартний зразок | Дослідний зразок |
| P1, мл   | 1.0             | 1.0                | 1.0              |
| Стандарт, мкл                                      | -               | 10                 | -                |
| Сироватка, плазма, сеча, спинномозкова рідина, мкл | -               | -                  | 10               |
| Дослідження капілярної (венозної) крові            |                 |                    |                  |
|  | Холостий зразок | Стандартний зразок | Дослідний зразок |
| P1, мл   | 1.0             | 1.0                | 1.0              |
| Стандарт, мкл                                      | -               | 100                | -                |
| Центрифугат (надосадова рідина), мкл               | -               | -                  | 100              |

**Прим. 1.** При дослідженні капілярної (венозної) крові, для отримання центрифугату необхідно 0.1 мл цільної крові змішати з 0.9 мл розчином антикоагулянту, центрифугувати 10 хв. при 1000-1500 об/хв. для осадження еритроцитів. Стандарт перед дослідженням розводять як цільну кров: 0.1 мл стандарту + 0.9 мл розчину антикоагулянту.

**2. Об'єми реагенту, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.**

4. Перемішати, інкубувати протягом 10 хв. при 37°C або 30 хв. при 15-25°C.

5. Виміряти оптичну щільність (E) дослідного зразка і стандарту проти холостого зразка.

Забарвлення стабільне протягом 30 хвилин при кімнатній температурі.

### Якісне визначення глюкози в сечі

В лунку імунологічного планшету внести 2 мкл сечі, додати 100 мкл P1.

**Оцінка результатів.** Відсутність розвитку забарвлення впродовж однієї хвилини свідчить про відсутність глюкози в даному зразку сечі.

Зразки сечі, які дали позитивну реакцію (почервоніння), підлягають кількісному аналізу при розведенні сечі в 50 разів.

### Розрахунок результатів

Сироватка, плазма крові:

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

Сеча :

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{см}}} \times C_{\text{см}} \times 50$$

- де:  $C_{\text{дос}}$  - концентрація глюкози в дослідному зразку, ммоль/л.  
 $E_{\text{дос}}$  - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.  
 $E_{\text{см}}$  - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.  
 $C_{\text{см}}$  - вміст глюкози в стандарті, 10.0 ммоль/л.  
50 - коефіцієнт розведення сечі.

### Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальні рівні глюкози становлять:

- в сироватці, плазмі крові 3.33 - 6.1 ммоль/л
- в капілярній (венозній) крові 2.7 - 5.7 ммоль/л
- в сечі 0 - 1.11 ммоль/л
- в спинномозковій рідині 2.25 - 4.44 ммоль/л

### Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СпЛ Контроль НОРМА», «СпЛ Контроль ПАТОЛОГІЯ» («Лабораторія Гранум», Україна); «КОНТРОЛЬ НОРМА Biog», «КОНТРОЛЬ ПАТОЛОГІЯ Biog» (Spinreact, S.A. Іспанія), «ERBA NORM, PATH» (Чехія), «Corma Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

### Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).

### Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.
- ОЩ холостого зразка  $\geq 0.32$ .

### Примітки

1. Глюкоза Стандарт. Працюйте обережно з цим реагентом, оскільки за своєю природою він легко може забруднитися.
2. Калібрування з водним стандартом може призвести до виникнення систематичної помилки в автоматизованих процедурах. У таких випадках рекомендується використовувати сироватку Калібратор.
3. Використовуйте чисті накінечники для дозатора.