

Kapalná činidla- k přímému použití

GLUCOSE

Hexokináza

2 Činidla

Diagnostické činidlo ke kvantitativnímu in vitro diagnostickému stanovení glukózy v lidském séru, plazmě nebo moči na fotometrických systémech

REF	Velikost balení	Obsah
D96225B	1 x 12.5 L	1 x 10 L R1 + 1 x 2.5 L R2
D03114B	1 x 1.25 mL	1 x 1 L R1 + 1 x 250 mL R2
D96226	5 x 100 mL	4 x 100 mL R1 + 1 x 100 mL R2
D96227	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
D00632	5 x 25 mL	4 x 25 mL R1 + 1 x 25 mL R2
D00637	5 x 10 mL	4 x 10 mL R1 + 1 x 10 mL R2
D71911	5 x 50 mL	5 x 40 mL R1 + 2 x 25 mL R2
D0426917	5 x 62.5 mL	4 x 62.5mL R1 + 1 x 62.5mL R2
DA0828	5 x 50 mL	5 x 40 mL R1 + 5 x 10 mL R2
DT1028	4 x 62.5 mL	4 x 50 mL R1 + 4 x 12.5mL R2
DK0727	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
DB0927	2 x 150 mL	2 x 120 mL R1 + 2 x 30 mL R2

Zvlášť lze objednat:

D95223	1 x 3 mL	Glucose Standard	
D98485	5 x 3 mL	Calibrator	Diacal Auto
D98485SV	1 x 3 mL	Calibrator	Diacal Auto
D98481	12 x 5 mL	Control normal	Diacon N
D14481	5 x 5 mL	Control normal	Diacon N
D98481SV	1 x 5 mL	Control normal	Diacon N
D98482	12 x 5 mL	Control abnormal	Diacon P
D14482	5 x 5 mL	Control abnormal	Diacon P
D98482SV	1 x 5 mL	Control abnormal	Diacon P
D08581	12 x 5 mL	Urine control normal	Diacon Urine Level 1
D08581SV	1 x 5 mL	Urine control normal	Diacon Urine Level 1
D08582	12 x 5 mL	Urine control abnorm.	Diacon Urine Level 2
D08582SV	1 x 5 mL	Urine control abnorm.	Diacon Urine Level 2

PARAMETRY STANOVENÍ

Metoda:	UV, Endpoint, Nárůst absorbance, Hexokináza
Vlnová délka:	340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm
Teplota:	20 – 25 °C, 37°C
Vzorek:	Sérum, plazma, moč
Linearita:	Až do 900 mg/dl (50 mmol/l) at 365 nm až do 500 mg/dl (28 mmol/l) at 334/340 nm
Sensitivita:	Nejnižší limit detekce je 2 mg/dl (0.1 mmol/l)

SLOŽENÍ ČINIDEL

Složky	Koncentrace
Činidlo 1:	
Tris pufr, pH 7.8	100 mmol/l
Mg 2+	4 Mmol/l
ATP	2.1 mmol/l
NAD	2.1 mmol/l
Činidlo 2:	
Mg 2+	4 mmol/l
Hexokináza (HK)	> 7.5 kU/l
Glukóza-6-fosfát dehydrogenáza (G6P-DH)	> 7.5 kU/l

PŘÍPRAVA ČINIDEL

Start substrátem:

Činidla jsou připravena k přímému použití.

Start vzorkem:

Pracovní činidlo se připraví smícháním 4 dílů činidla R1 a 1 dílu činidla R2.

STABILITA A SKLADOVÁNÍ ČINIDEL

Podmínky:	Chraňte před světlem Uzavřete okamžitě po použití Předejděte kontaminaci.
-----------	---

Start substrátem:

Skladování:	při 2 – 8 °C
Stabilita:	Po celou dobu expirace

Start vzorkem (pracovní činidlo):

Stabilita:	při 2 – 8 °C	3 měsíce
	při 15 – 25 °C	2 týdny

Pracovní činidlo chraňte před světlem!

STABILITA A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Sérum/plazma: oddělte buněčný obsah nejpozději hodinu po odběru.

Stabilita v séru/plazmě s přidávkem antiglykolytické přísady (fluorid, monoacetoacetát, manóza) [3]:

při 20 – 25 °C	2 dny
při 4 – 8 °C	7 dní
při -20 °C	1 den

Stabilita v séru (po oddělení, bez hemolýzy) bez přidavku antiglykolytického činidla [2,4]:

při 25 °C	8 hodin
při 4 – 8 °C	72 hodin

Stabilita v moči [3]:

při 20 – 25 °C	2 hodiny
při 4 – 8 °C	2 hodiny

Lze zmrazit pouze jednou!

Nepoužívejte kontaminované vzorky!

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL

NaCl roztok (9 g/L)

Základní laboratorní vybavení

STANDARD

(není součástí soupravy- potřeba objednat zvlášť)

Koncentrace 100 mg/dl (5.55 mmol/l)

Skladování: 2 – 25 °C

Stabilita: Po celou dobu vyznačené expirace

Uzavřete okamžitě po použití!

INTERFERENCE

Bez interference do:

Kyselina askorbová	30 mg/dl
bilirubin	40 mg/dl
hemoglobin	500 mg/dl
triacylglyceroly	2000 mg/dl

při startu substrátem.

Další informace o interferujících látkách viz Young DS [5].

MANUÁLNÍ PŘÍPRAVA TESTU

Činidla a vzorky inkubujeme na teplotu stanovení.

Start Substrátem

Pipetujeme	Blank	Std./Kal.	Vzorek
Činidlo 1	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Vzorek	-	-	10 µl
Standard / Kalibrátor	-	10 µl	-
Dest. voda	10 µl	-	-

Promícháme, inkubujeme 1-5 minut při 20-25°C/37°C, odečteme absorbanci A1 a přidáme:

Činidlo 2	250 µl	250 µl
Promícháme, inkubujeme 5 minut při 37°C nebo 10 minut při 20-25°C. Odečteme absorbanci A2 proti blanku. Měření je nutné provést do 30 minut.		
Vypočítáme $\Delta A = A2 - A1$		

Start vzorkem

Pipetujeme	Blank	Std./Kal.	Vzorek
Pracovní činidlo	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Vzorek	-	-	10 µl
Standard / Kalibrátor	-	10 µl	-
Dest. voda	10 µl	-	-

Promícháme, inkubujeme 5 minut při 37°C nebo 10 minut při 20-25°C. Odečteme absorbanci vzorku a standardu proti blanku. Měření je nutné provést do 30 minut.

Pozn.: Start vzorkem je doporučen pouze pro analyzátoři umožňujícími odečtení reakčního blanku (bichromatické měření). Vzorky často při startu vzorkem vykazují relativně vysoké absorbance, a tedy falešně vysoké koncentrace glukózy.

Níže uvedené faktory nemohou být použity při bichromatickém měření.

VÝPOČET

Standard/Kalibrátor:

$$\text{Glukóza (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ vzorek}}{\Delta A \text{ Std/Kal}} \times \text{Konc Std/Kal (mg/dl)}$$

S faktorem: (kyveta 1cm)

$$\text{Glukóza} = \Delta A \text{ vzorek} \times \text{Faktor}$$

Faktory:

Start substrátem:	[mg/dl]	[mmol/l]
Faktor při 340 nm	361	20.0
Faktor při 334 nm	367	20.5
Faktor při 365 nm	667	37.1

Start vzorkem:

Faktor při 340 nm	289	16.0
Faktor při 334 nm	294	16.4
Faktor při 365 nm	535	29.7

PŘEVOD JEDNOTEK

$$\text{Glukóza [mg/dl]} \times 0.05551 = \text{Glukóza [mmol/l]}$$

REFERENČNÍ ROZSAH [1]*

Novorozenci:	[mg/dl]	[mmol/l]
Pupečnicková krev	63 – 158	3.5 – 8.8
1 h	36 – 99	2.0 – 5.5
2 h	36 – 89	2.2 – 4.9
5 – 14 h	34 – 77	1.9 – 4.3
10 – 28 h	46 – 81	2.6 – 4.5
44 – 52 h	48 – 79	2.7 – 4.4
Děti (půst):		
1 – 6 let	74 – 127	4.1 – 7.0
7 – 19 let	70 – 106	3.9 – 5.9
Dospělí (půst):		
Sérum/plazma	70 – 115	3.9 – 6.4

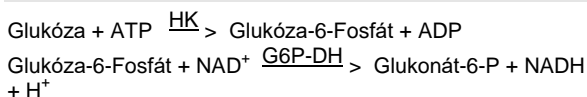
Moč: ≤ 15 mg/dl (0.84 mmol/l)
 (hodnota je založena na průměrném množství moče 1350 mL/den)

* doporučujeme v každé laboratoři stanovit vlastní referenční rozmezí normálních hodnot.

SHRNUTÍ [1,2]

Měření koncentrace glukózy v séru nebo plazmě je nejčastěji používaným diagnostickým a monitorovacím nástrojem při onemocněním diabetus mellitus. Dalším využitím je i detekce neonatální hypoglykemie, vyloučení karcinomu (pancreatic islet cell carcinoma) nebo sledování metabolismu karbohydrátů při různých onemocněních.

PRINCIP TESTU



HODNOCENÍ FUNKČNÍ ZPŮSOBILOSTI

LINEARITA

Test byl vyvinut ke stanovení glukózy v koncentračním rozmezí 2 – 900 mg/dl (0.1 – 50 mmol/l) při 365 nm, respektive v rozmezí 2 – 500 mg/dl (0.1 – 500 mg/dl) při 334/340 nm. Při vyšší koncentraci je nutno vzorek zředit v poměru 1 + 2 roztokem NaCl (9 g/L) a výsledek vynásobit ředícím faktorem 3, vzorek moče je nutno zředit 1+10 destilovanou vodou a výsledek vynásobit 11.

PŘESNOST (při 37 °C)

Intra-assay, n = 20	Průměr [mg/dl]	SD [mg/dl]	CV [%]
Vzorek 1	65.7	1.35	2.11
Vzorek 2	121	2.54	2.11
Vzorek 3	298	6.57	2.21

Inter-assay, n = 20	Průměr [mg/dl]	SD [mg/dl]	CV [%]
Vzorek 1	91.0	0.86	0.94
Vzorek 2	117	1.07	0.91
Vzorek 3	290	2.28	0.79

POROVNÁNÍ METOD

Při porovnání Dialab Glucose Hexokinase (y) s komerčně dostupným testem (x) (73 vzorků) byly získány následující výsledky:

$$y = 1.00 x + 0.00 \text{ mg/dl}; r = 0.998.$$

KONTROLA KVALITY

Všechna komerční kontrolní séra, kde je uvedena hodnota pro tuto metodu stanovení, jsou použitelná.

Doporučujeme používat Dialab sérovou kontrolu **Diacon N** (kontrolní sérum s normálními hodnotami) a **Diacon P** (kontrolní sérum s abnormálními hodnotami), stejně tak **Diacon Urine Level 1** (normální kontrola močová) a **Level 2** (abnormální kontrola močová).

KALIBRACE

Stanovení vyžaduje použití standardu nebo kalibrátoru.

Doporučujeme Dialab **Glucose Standard** a Dialab multi kalibrační sérum **Diacal Auto**.

Stanovené hodnoty kalibrátoru jsou návazné na referenční metodu - *plynová chromatografie* s hmotnostní spektrometrií a s izotopovým zředováním (GC-IDMS).

AUTOMATIZACE

Na požádání jsou k dispozici aplikační listy pro běžné typy automatických analyzátorů.

BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

- Činidla obsahují 0,95 g/l azidu sodného jako konzervačního činidla. Nepolykejte! Předejděte kontaktu s kůží a měkkými tkáněmi.
- Ve vzácných případech poskytují vzorky pacientů s gamapatií nesprávné výsledky.
- Další informace naleznete v bezpečnostním listu. Dodržujte správnou laboratorní praxi.
- K diagnostickým účelům je potřeba porovnat výsledky diagnostických testů s anamnézou pacienta s celkovým klinickým obrazem.

ODPADOVÉ HOSPODÁŘSTVÍ

Prázdný obal zneškodněte v souladu se zákonem o odpadech.

LITERATURA

- Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.131-7, 1368.
- Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B saunders company; 1999. p.750-808.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p.30-1, 50-1.
- Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Mac Laren NK, Mc Donald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2002; 48: 436-72.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.

