Glucose Hexokinase FS*

Diagnostická reagencie pro kvantitativní in vitro stanovení glukózy v séru, plazmě nebo moči fotometricky.

Kat. čísla:

Kat. č.	balení							
1 2511 99 10 021	R1	5 x	20 mL	+	R2	1 x	25 mL
1 2511 99 10 026	R1	5 x	80 mL	+	R2	1 x	100 mL
1 2511 99 10 023	R1	1 x	800 mL	+	R2	1 x	200 mL
1 2511 99 10 704	R1	8 x	50 mL	+	R2	8 x	12.5 mL
1 2511 99 10 917	R1	8 x	60 mL	+	R2	8 x	15 mL

Shrnutí [1,2]

Měření koncentrace glukózy v séru nebo plazmě se používá zejména při stanovení diagnózy a monitorování léčby diabetu. K jiným aplikacím patří zjišťování neonatální hypoglykémie, vyloučení karcinomu buněk pankreatických ostrůvků, jakož i vyhodnocení metabolizmu sacharidů při různých onemocněních

Metoda

Enzymatické UV stanovení pomocí hexokinázy

Princip

Glukóza + ATP $\xrightarrow{HK}$ Glukózo-6-fosfát + ADP

Glukózo-6-fosfát + NAD^+ $\xrightarrow{G6P\text{-}DH}$ Glukonát-6-P + NADH + H^+

Reagencie

Složení a koncentrace

R1:	TRIS pufr	pH 7.8	100 mmol/L
	Mg^{2+}		4 mmol/L
	ATP		2.1 mmol/L
	NAD		2.1 mmol/L
R2:	$Mα^{2+}$		4 mmol/L
	Hexokináza (HK)		≥ 7.5 kU/L
	Glukózo-6-fosfátdegydrogenáza (G6P-DH)		≥ 7.5 kU/L

Pokyny pro skladování a stabilita reagencie

Reagencie jsou stabilní až do konce uvedeného měsíce expirace, pokud jsou skladovány při teplotě 2-8 °C, chráněny před světlem a zabráněno kontaminaci. Reagencie nezmrazujte!

Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Činidla obsahují azid sodný (0,95 g/l) jako konzervační látku. Nepožívat! Zabraňte kontaktu s kůží a sliznicemi.

2. Reagencie 2 obsahuje živočišný materiál. S produktem zacházejte jako s potenciálně infekčním v souladu s univerzálními bezpečnostními opatřeními a správnou laboratorní praxí.

3. Ve velmi vzácných případech mohou vzorky pacientů s gamapatií poskytovat zkreslené výsledky [6].

4. Seznamte se s bezpečnostními listy a dodržujte nezbytná bezpečnostní opatření při používání laboratorních činidel. Pro diagnostické účely je třeba výsledky vždy posuzovat s anamnézou pacienta, klinickými vyšetřeními a dalšími nálezy.

5. Pouze pro profesionální použití!

Nakládání s odpady

Viz místní zákonné požadavky.

Požadované materiály

Roztok NaCl 9 g/L
Obecné laboratorní vybavení.

Příprava reagencií

Reagencie jsou přípraveny k použití.

Vzorek

Sérum, plazma nebo moč
Oddělte erytrocyty nejpozději do 1 hodiny po odběru krve.
Stabilita v plazmě po přidání glykolytického inhibitoru (fluorid, monojodacetát, manóza) [3]:

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

Stabilita v séru (odděleně od buněčného obsahu, bez hemolýzy) bez přidání glykolytického inhibitoru [2,4]:

8 h	při	25°C
72 h	při	4°C

Stabilita v moči [3]:

2 h	při	20 – 25°C
2 h	při	4 – 8°C

Zmrazte pouze jednou!

Kontaminované vzorky zlikvidujte!

Pracovní postup

Aplikační listy pro automatizované systémy jsou k dispozici na vyžádání.

Vlnová délka	340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm
Kyveta	1 cm
Teplota	20 – 25 °C/37 °C
Měření	Proti reagenčnímu blanku

	Blank	**Vzorek/kalibrátor**
Vzorek/kalibrátor	-	10 µL
Dest. voda	10 µL	-
Reagent 1	1000 µL	1000 µL
Promíchejte a inkubujte 1-5 minut při 20-25 °C/37 °C. Odečtěte absorbanci A1, poté přidejte:		
Reagent 2	250 µL	250 µL
Promíchejte, inkubujte 5 minut při 37 °C nebo 10 minut při 20-25 °C. Odečtěte absorbanci A2 proti reagenčnímu blanku do 30 min..		

∆A = (A2 – A1) **Vzorek/kalibrátor**

Výpočet

S faktorem

Pro výpočet koncentrace glukózy vynásobte ∆A odpovídajícím faktorem f z níže uvedené tabulky..

Vlnová délka	f [mg/dL]	f [mmol/L]
340 nm	361	20.0
Hg 334 nm	367	20.5
Hg 365 nm	667	37.1

S kalibrátorem

$$\text{Glukóza [mg/dL]} = \frac{\Delta A \text{ Vzorku}}{\Delta A \text{ Kalibr.}} \times \text{Konc. Kal. [mg/dL]}$$

Konverzní factor

Glukóza [mg/dL] x 0.05551= Glukóza [mmol/L]

* stabilní kapalina

Kalibrátory a kontroly

Pro kalibraci na fotometrických systémech se doporučuje kalibrátor DiaSys TruCal U. Kalibrační hodnoty tohoto kalibrátoru jsou navázány na referenční metodu plynové chromatografie - hmotnostní spektrometrie s izotopovým ředěním (GC- IDMS). Ke kalibraci lze alternativně použít standardní glukózu FS. Pro interní kontrolu kvality by měly být testovány kontroly DiaSys TruLab N, P a TruLab Urine. Každá laboratoř by měla stanovit nápravná opatření v případě odchylek ve výtěžnosti kontrol.

	Kat. č.	Balení
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab Urine Level 1	5 9170 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9170 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab Urine Level 2	5 9180 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9180 99 10 061	6 x 5 mL
Glucose Standard FS	1 2500 99 10 030	6 x 3 mL

Charakteristika metody

Měřicí rozsah

Test byl vyvinut pro stanovení koncentrace glukózy v rozsahu měření 2 - 900 mg/dl (0,1 - 50 mmol/l) při vlnové délce 365 nm, resp. v rozsahu měření 2 - 500 mg/dl (0,1 - 28 mmol/l) při vlnové délce 334/340 nm.
Pokud hodnoty přesahují tato rozmezí, vzorky séra a plazmy by měly být zředěny 1+2 roztokem NaCl (9 g/l) a výsledek by měl být vynásoben 3, vzorky moči by měly být zředěny 1+10 destilovanou vodou a výsledek by měl být vynásoben 11.

Specificita/interference

Nebyly pozorovány žádné interference kyseliny askorbové do 30 mg/dl, bilirubinu do 40 mg/dl, hemoglobinu do 500 mg/dl a lipémie do 2000 mg/dl triglyceridů, pokud se pracovalo se substrátem start. Další informace o interferujících látkách jsou uvedeny v Young DS [5].

Sensitivita/Limit detekce

Spodní mez detekce je 2 mg/dl (0,1 mmol/l).

Přesnost (při 37 °C)

Přesnost v rámci testu n = 20	Průměr [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Vzorek 1	65.7	1.39	2.11
Vzorek 2	121	2.54	2.11
Vzorek 3	298	6.57	2.21

Přesnost mezi testy 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

Srovnání metod

Srovnání testu DiaSys Glucose Hexokinase FS (y) s komerčně dostupným testem (x) s použitím 73 vzorků poskytlo následující výsledky:

y = 1,00 x + 0,00 mg/dl; r = 0,998

Referenční rozmezí [1]

	[mg/dL]	[mmol/L]
Novorozenci:		
Pupečníková 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 (nalačno):		
1 - 6 let	74 – 127	4.1 – 7.0
7 - 19 let	70 – 106	3.9 – 5.9
Dospělí (nalačno):		
Sérum/plazma	70 – 115	3.9 – 6.4

Moč: ≤ 15 mg/dL (0.84 mmol/L)

(Hodnota vychází z průměrného množství moči 1350 ml/den)

Každá laboratoř by měla ověřit, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její vlastní populaci pacientů, a případně stanovit vlastní referenční rozsahy.

Literatura

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 131-7, 1368.
2. 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.
3. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 30-1, 50-1.
4. 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.
5. 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.
6. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Výrobce:

IVD CE
DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany