

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Παρουσία του ενζύμου γλυκόζο οξειδάση (GOD) η γλυκόζη οξειδώνεται και παράγει H_2O_2 . Η αντίδραση του H_2O_2 με φαινολικό παράγωγο και 4-αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο δείγμα.



ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

70 - 120 mg/dl
3.89 - 6.67 mmol/L

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

R¹. Ρυθμιστικό διάλυμα
R^{1a}. Ενζυμα και συμπράγοντες
R⁴. Πρότυπο διάλυμα Γλυκόζης 100 mg/dl (όπου απαιτείται)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σε ένα φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος (R¹) μεταφέρατε ποσοτικά ένα φιαλίδιο ενζύμων (R^{1a}).

ΤΕΛΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ

Ρυθμιστικό 0.2 M PH 8.0, GOD > 18 IU/ml, POD > 2 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.25 mM, παράγωγο φαινόλης 10 mM, συμπράγοντες.

ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Αναγράφεται στο set, σε θερμοκρασία 2-10°C.
Σταθερότητα διαλύματος εργασίας, 45 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ

Ορός.
Σταθερότητα γλυκόζης στο δείγμα, 7 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΜΕΘΟΔΟΣ (Όλοι οι όγκοι δηλώνουν ml)

Μήκος κύματος : 510 nm (500-550 nm)
Θερμοκρασία : 37°C
Κυψελίδα : 1 cm
Σταθερότητα χρώματος : 2 ώρες
όπου T: τυφλό, Δ: δείγμα, S: πρότυπο

	T	Δ	S
Διάλυμα εργασίας	1.0	1.0	1.0
Γλυκόζη 100 mg/dl	-	-	0.01
Απεσταγμένο H ₂ O	0.01	-	-
Δείγμα	-	0.01	-

Συσκευασία 4x100 ml : Επώαση 10 min στους 37°C
Συσκευασία 4x200 ml : Επώαση 15 min στους 37°C

Ανάδευση,
φωτομέτρηση έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 510 nm

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

$$\text{Γλυκόζη (mg/dl)} = A_{\Delta}/A_S \times 100$$

$$\text{Γλυκόζη (mmol/L)} = A_{\Delta}/A_S \times 5.55$$

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Μέχρι 500 mg/dl (27.8 mmol/L) ανάλογα με τον τύπο του αναλυτή

CALIBRATOR/ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (Δεν παρέχονται με το kit)

Biomultical, Bionorm, Biopath

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Εάν το φωτόμετρο απαιτεί μεγαλύτερο όγκο φωτομέτρησης ή εάν δεν διαθέτετε κατάλληλη πιπέτα για την λήψη του απαιτούμενου όγκου, αυξήστε τους χρησιμοποιούμενους όγκους αναλογικά.
- Η χρήση του πρότυπου διαλύματος στη βαθμονόμηση του αναλυτή δεν συνιστάται λόγω διαφορετικής υψής του φέροντος μίγματος (matrix) ως προς τον ορό. Σε πολλές περιπτώσεις η επίδραση αυτή είναι αμελητέα σε άλλες όμως όχι. Γι' αυτό το λόγο η χρήση του πρότυπου διαλύματος ως calibrator ή ορός ελέγχου δεν επιτρέπεται.

ΤΕΧΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Γραμμικότητα (Linearity): Η Αντίδραση είναι γραμμική στην περιοχή συγκεντρώσεων από 0,7-500 mg/dl

Αναλυτική ευαισθησία - όριο ανίχνευσης (Sensitivity):

Το όριο ευαισθησίας του προσδιορισμού υπολογίστηκε ότι αντιστοιχεί με 0,7 mg/dl

Πιστότητα (Precision):

Επαναληψιμότητα (Repeatability):

A. Δεδομένα εντός του αυτού κύκλου ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD mg/dl	CV %
20	84	2,44	3,05
21	105	2,50	2,38
21	257	4,51	1,75

Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility):

B. Δεδομένα διαφόρων κύκλων και ημερών ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD mg/dl	CV %
21	107	4,31	4,02
18	226	8,18	3,60
21	259	7,90	2,85

Παρεμποδίσσεις – αλληλεπιδράσεις (Interference):

Δεν παρουσιάζουν σημαντική αναστολή μέχρι τα αναφερόμενα όρια

Παρεμποδιστής	Έκφραση σε	Όρια mg/dl
Αιμόλυση	Αιμοσφαιρίνη	~500
Θολερότητα	Τριγλυκερίδια	~150
Ίκτερος	Χολερυθρίνη	~20

Ανάλυση παλινδρόμησης (Regression Analysis):

Μέθοδος: Γραμμική παλινδρόμηση (Linear Regression)

Αριθμός Δειγμάτων : 39

Όρια συγκέντρωσης : 57-301 mg/dl

Σχέση : $y = -1,78 + 1,02 x$

Όπου y η παρούσα μέθοδος και x παρεμφερής μέθοδος προσδιορισμού.

Συντελεστής συσχέτισης $r=0,997$

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Trinder P. Ann.Clin.Bioch. 6 24 (1969)

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

4 x 100 ml

4 x 200 ml

12 x 50 ml

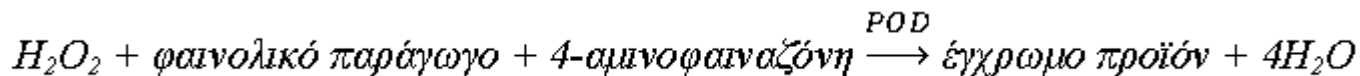
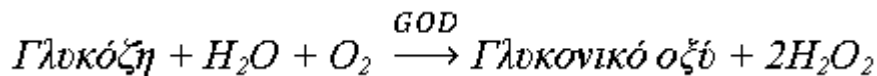
Βίντεο Πέτρος Καρκαλούσος ΤΕΙ Αθήνας



Μέθοδος φωτομετρίας τελικού σημείου. Επιδεικνύεται ο προσδιορισμός της γλυκόζης με τη μέθοδο οξειδάσης της γλυκόζης, <https://youtu.be/V2lkVFUBsX8>

Σχετικό οπτικό υλικό στο διαδίκτυο

- Λειτουργία ημιαυτόματου φωτόμετρου: <https://www.youtube.com/watch?v=gKRKqLAzzM0> (τελευταία προσπέλαση: 1/7/2015).



Η επίσημη μέθοδος αναφοράς για τον ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκόζης στα βιολογικά υγρά είναι η ενζυμική μέθοδος της εξοκινάσης (E.C.2.7.10.1). Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στις παρακάτω βιοχημικές αντιδράσεις:



Η παραγωγή NADPH μπορεί να παρακολουθηθεί και να προσδιοριστεί φασματοφωτομετρικά ($\lambda_{\text{max}} = 340 \text{ nm}$) ή φθορισμομετρικά (λ διέγερσης = 340 nm , λ εκπομπής = 455 nm). Η συγκεκριμένη μέθοδος προτυποποιήθηκε λόγω της μεγάλης ειδικότητας του ενζύμου G-6PDH (glucose 6 phosphate dehydrogenase, αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης) στη δεύτερη αντίδραση. Επιπλέον η μέθοδος δεν παρεμποδίζεται από την παρουσία ασκορβικού ή ουρικού οξέος.