

آزمایش اندازه گیری قند خون توسط کیت تشخیص کمی (GLUCOSE(GOD) در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک

حجم محلول ها ۵ و یال ۱۰۰ میلی متر معرف

بهداشت و ایمنی دفع مواد زائد

در مورد چگونگی دور ریز مواد در صورت وجود قوانین تدوین موجود عمل شود.

مقدمه :

سطح گلوکز خون از طریق یک مکانیسم دقیق پس نورد به وسیله انسولین و گلوکاگون ترشح میشود. علاوه بر دو مورد فوق هورمونهای متعدد دیگری مثل کورتیکواستروئیدها- اپی نفرین- تیروکسین و ACTH هم روی متابولیسم گلوکز تاثیر دارند. با افزایش سن مقادیر طبیعی برای سطوح قند سرم و پلاسما به این ترتیب تنظیم میشود که به ازای هر سال بعد از سن ۶۰ سالگی ۱ میلی گرم به مقادیر طبیعی افزوده می شود.

نوع نمونه اولیه مورد نیاز:

سرم ، پلاسما تهیه شده با ضدانعقاد هپارین و یا EDTA ، مایع نخاع و ادراری تواند برای این آزمایش استفاده شود. در صورت استفاده از ضدانعقاد فلورید سدیم و یا پتاسیم ، پلاسما حاصله در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد تا یک روز و در دمای ۸-۴ درجه تا هفت روز پایداری دارد. ضمناً برای جلوگیری از گلیکولیز حتماً باید سرم یا پلاسما طی مدت یک ساعت پس از نمونه گیری ، از خون تام جدا شود.

موارد کاربرد :

شناسائی و همینطور کنترل درمان بیماران مبتلا به دیابت
شناسائی هیپوگلیسمی در نوزادان ، در سرطان پانکراس
ارزیابی متابولیسم کربوهیدراتها در بیماریهای مختلف
به تشخیص پزشک برای رد یا تأیید بیماریهای دیگر

تشخیصهای افتراقی کاهش قند خون:

- ۱- اختلالات پانکراس (تومور و هیپرپلازی- پانکراتیت- کمبود گلوکاگون)
- ۲- تومورهای خارج از پانکراس (کارسینوم غده فوف کلیوی- کارسینوم معده- فیروسارکوما)
- ۳- بیماری کبدی (مسمومیت با کلروفورم و آرسنیک- هپاتیت- سیروز- تومور اولیه یا متاستاتیک- الکلیسم)
- ۴- اختلالات غدد درون ریز (کم کاری هیپوفیز- بیماری آدیسون- کم کاری تیروئید- عدم پاسخ دهی قسمت مرکزی غده فوق کلیه- مراحل اولیه دیابت)
- ۵- اختلالات عملکردی (متعاقب برداشت معده- پیوند معده به روده- اختلالات سیستم عصبی خودکار)

- ۶- ناهنجاری های کودکی (نارسی - نوزاد مادر دیابتی - هیپوگلیسمی کتونی - سندرم زترستروم - حساسیت به لوسین - هیپوگلیسمی خودبخودی در شیرخوار)
- ۷- نقصهای آنزیمی (ون ژیرکه - گالاکتوزمی - عدم تحمل فروکتوز - نقصهای متابولیسم اسیدهای آمینه و اسیدهای ارگانیک - شربت افرا...)
- ۸- نقصهای متابولیسم اسیدهای چرب (نقصهای آسپیل کوآ دهیدرژناز و کارنیتین)
- ۹- مصرف انسولین خارجی - قرصهای پایین آورنده قند - سوء تغذیه - ضایعات هیپوتالاموس
- ۱۰- هیپوگلیسمی واکنشی مثل هیپرانسولینسم تغذیه ای - نقص غددی و حالت پره دیابتی

ملاحظات ایمنی:

- ۱- رعایت تمامی دستور العمل های ایمنی و بهداشت در مورد دورریز موادی مثل بقیه سرم و سرم کنترل و نوک سمپلر و....
- ۲- بکارگیری پوار در هنگام آماده سازی معرف ها و یا هرگونه کار دیگر در انجام آزمایش
- ۳- استفاده از دستکش به هنگام کار
- ۴- رعایت موارد مذکور با جزئیات کامل در قسمت «هشدارها و بهداشت و ایمنی دفع مواد زائد» در بروشور کیت آمده است .

محدودیت ها و عوامل مداخله گر در آزمایش:

- ۱- عدم تصدیق معرف ها , کالیبراتور , کنترل ها و سایر موارد کاربردی توسط اپراتور از جمله تغییر رنگ , نداشتن تاریخ مصرف و غیره.
- ۲- اسید اسکوربیک تا غلظت ۱۵ میلی گرم در دسی لیتر
- ۳- حجم ناکافی نمونه و خطاهای نمونه گیری از جمله همولیز و نیز بیان ناصحیح شرایط آزمایش و نمونه گیری به بیمار
- ۴- عدم پذیرش ناشتایی
- ۵- استامینوفن - الکل - استروئیدهای آنابولیک - کلوفیرات - دیزوپیرامید - جم فیروزیل - انسولین - پنتامیدین - پروپرانولول - تولازامید باعث کاهش قند خون میشوند.
- ۶- تیروکسین - دیازوکساید - استروژن - گلوکاگون - ایزونیازید - سالیسیلات - تریامترن - بنزودیازپین - فوروسماید - اپی نفرین - گلوکوکورتیکوئیدها - گلوکز - لیتیم - قرصهای ضد بارداری - فنوتیازین - فنی توئین - دیورتیکهای تیازیدی سبب افزایش قند خون می شوند.
- ۷- وجود خون در سرم و یا لیز بودن آن
- ۸ - بیلی روبین تا غلظت ۴۰ میلی گرم در دسی لیتر

۹- هموگلوبین تا غلظت ۲۰۰ میلی گرم در دس لیتر و تری گلیسیرید تا غلظت ۲۰۰۰ میلی گرم در دسی لیتر باعث تداخل در آزمایش نمی شود .

۱۰- هماتوکریت بالای ۵۵٪ و ورزش شدید سبب کاهش قند خون میشوند.

۱۱- تزریق مایعات داخل رگی - حاملگی - چاقی - مصرف زیاد سیگار - روش زندگی نشسته - اشکال مختلف استرس - بیهوشی عمومی - حوادث عروقی مغز - سکنه مغزی سطح قند خون را بالا می برند.

۱۲- مقدار قند خون کامل * ۹۴٪ = غلظت قند پلاسما

تفسیر (علل تکرار ، چگونگی و نحوه گزارش آن):

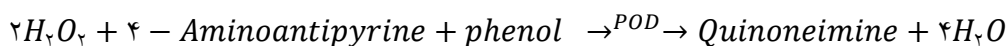
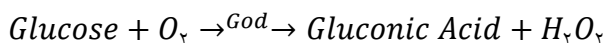
- ۱- مقادیر بالاتر و پایین تر محدوده نرمال تکرار شود .
- ۲- مواردی که نتایج حاصل از آزمایش در مقایسه با سایر تست ها تطابق بالینی ندارد ، تکرار شود .
- ۳- هرگونه مواردی که سوپر وایزر و یا مسئول فنی آزمایشگاه تکرار آن را گوشزد می نماید.
- ۴- به هر دلیلی که تکرار اتفاق می افتد ، نتایج حاصله مربوط به قبل و بعد از تکرار آن نتیجه گزارش نهایی و نیز علت تکرار در فرم ثبت نتایج علل تکرار تست ها ثبت و مرقوم گردد.
- ۵-۱۲-۶ تکرار روی همان نمونه با علامت * R1 و تکرار بر روی نمونه جدید با علامت * R2 در برگه ثبت نتایج گزارش گردد.

روش:

آنزیمی، کالیمتری (GOD-PAP) برای اندازه گیری تک نقطه ای با روش فتومتریک

اساس آزمایش :

در این آزمایش آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز، با فنول و ۴- آمینوآنتی پیرین ، در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می دهد. میزان کینو نیمین تشکیل شده که به صورت فتومتریک قابل اندازه گیری است با مقدار گلوکز رابطه مستقیم دارد.



GOD= Glucose oxidase POD= Peroxidase

معرف ها :

محتویات و مقادیر

توجه : مقادیر زیر برحسب محلول آماده شده برای کار کی باشد.

معرف:

Phosphate buffer	PH ۷.۵	۲۵۰ mmol/L
Phenol		۵ mmol/L
۴-Aminoantipyrine		۰.۵ mmol/L
Glucose oxidase	(GOD)	>۱۰ kU/L

شرایط نگهداری و پایداری محلول ها

محلول ها باید در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری شوند و تا تاریخ مندرج بر روی ویال ها قابل مصرف می باشد.

توجه: از فریز نمودن و قراردادن محلول ها در مجاورت نور خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلول رعایت گردد.

بهداشت و ایمنی دفع مواد زائد:

در مورد چگونگی دور ریز مواد در صورت وجود قوانین تروین شده طبق قانون موجود عمل شود.

آماده سازی محلول ها:

محلول معرف به صورت آماده مصرف می باشد.

لوازم و مواد مورد نیاز:

تجهیزات معمول آزمایشات پزشکی

سرم فیزیولوژی (محلول NaCl با غلظت ۹ گرم در لیتر)

کالیبراتور و کنترل ها:

جهت کالیبر ، استاندارد گلوکز یا کالیبراتور TruCal U و جهت کنترل ، Trulab N و Trulab P شرکت پارس آزمون بطور جداگانه تهیه شود.

نمونه ها :

سرم ، پلاسما همراه با EDTA یا هپارین

پایداری گلوکز در صورت افزودن شدن NaF یا KF :

در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد ۱روز

در دمای ۴ تا ۸ درجه سانتی گراد ۷ روز

از آلوده شدن نمونه ها جلوگیری شود.

جهت جلوگیری از گلیکولیز ، حتما سرم یا پلاسما حداکثر طی مدت یک ساعت پس از نمونه برداری از خون تام جدا شود.

روش انجام آزمایش :

طول موج : ۵۴۶ نانومتر (۵۰۰ تا ۵۴۶ نانومتر)

قطر کورت : یک سانتی متر

دما : ۲۰ تا ۲۵ درجه یا ۳۷ درجه سانتی گراد

اندازه گیری: فتومتر با بلاتک روی صفر تنظیم شود.

لوله آزمایش استاندارد	لوله آزمایش نمونه	لوله آزمایش بلانک	
۱۰ میکرومتر	۱۰ میکرومتر	-	نمونه یا استاندارد
-		۱۰ میکرومتر	آب مقطر
۱۰۰۰ میکرومتر	۱۰۰۰ میکرومتر	۱۰۰۰ میکرومتر	معرف
پس از مخلوط نمودن، ۲۰ دقیقه در دمای محیط (۲۰ تا ۲۵ درجه) یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه ساتی گراد انکوبه و حداکثر طی ۶۰ دقیقه جذب نوری استاندارد و نمونه ها را در برابر بلانک اندازه گیری نمایید.			

$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{\text{Abs Sample} \times \text{Conc. Std/Cal (mg/dl)}}{\text{Abs Std/Cal}}$$

محاسبات:

$$\text{Glucose (mg/dl)} \times 0.05551 = \text{Glucose (mmol/l)}$$

ضریب تبدیل واحد:

ویژگی ها و کارآیی کیت:

محدوده اندازه گیری:

این کیت جهت اندازه گیری گلوکز در محدوده ۵ تا ۴۰۰ میلی گرم در دسی لیتر طراحی شده و در مواردی که مقدار گلوکز بیش از ۴۰۰ میلی گرم باشد باید نمونه به نسبت ۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۵ ضرب شود.

عوامل مداخله گر

بیلیروبین تا غلظت ۴۰ میلی گرم در دسی لیتر، تری گلیسیرید تا غلظت ۲۰۰۰ میلی گرم در دسی لیتر، هموگلوبین تا غلظت ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر و اسید آسکوربیک تا غلظت ۱۵ میلی گرم در دسی لیتر باعث تداخل در آزمایش نمی شوند.

دقت (در ۳۷ درجه سانتیگراد)

مقایسه روشها:

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت گلوکز شرکت پارس آزمون (Y) با یکی از متداول ترین کیت های گلوکز در جهان (X) بر روی ۷۸ نمونه بیمار نتیجه زیر بدست آمد.

دامنه مرجع

نوزادان :

Cord blood	63 – 158 mg/dl
1h	36 – 99 mg/dl
2 h	36 – 89 mg/dl
5 – 14 h	34 – 77 mg/dl
10 – 28 h	46 – 81 mg/dl
44 – 52 h	48 – 79 mg/dl

کودکان (ناشتا)

1 – 6 Years	74 – 127 mg/dl
7 – 19 Years	70 – 106 mg/dl

بزرگسالان (ناشتا)

Venous plasma	70 – 115 mg/dl
---------------	----------------

قند خون ۲ ساعت بعد از غذا

در افراد سالم خوردن غذا سطح قند خون را بالا می برد که محرک قوی ترشح انسولین است. سطح انسولین در کمتر از ۱ ساعت به اوج می رسد.

در افراد نرمال در خلال ۲-۵/۱ ساعت سطح گلوکز به میزان پایه می رسد ولی در افراد دیابتی بالاست.

اگر قند خون ۲ ساعته در فرد دیابتی کمتر از ۱۳۰ میلی گرم در صد باشد کنترل خوب تلقی می شود در یک بیمار دیابتی میزان آن بیشتر از ۱۴۰ میلی گرم در صد است که باید تست تحمل گلوکز خوراکی انجام شود هدف از این آزمایش اثبات تشخیص دیابت و ارزیابی کنترل بیمار دیابتی انجام می شود.

تفسیر آزمایش:

- ۱- اگر قند ۲ ساعته بیش از ۱۴۰ و کمتر از ۲۰۰ باشد نشان دهنده اختلال تحمل گلوکز است و برای تایید دیابت باید تست تحمل خوراکی انجام شود.
- ۲- قند ۲ ساعته بیشتر از ۲۰۰ دیابت قندی را اثبات میکند. با این وجود با قند ۲ ساعته دیابت تشخیص داده نمیشود بلکه افزایش آن نشان دهنده نیاز به تعیین سطح قند خون ناشتا یا تست تحمل خوراکی گلوکز است.
- ۳- در افراد طبیعی قند ۲ ساعته پس از غذا کمتر از ۱۴۰ میلی گرم است.
- ۴- اگر قند ۲ ساعت بعد از غذا در یک زن حامله بیش از ۱۵۰ باشد نشان دهنده دیابت حاملگی است (برای تأیید تشخیص تست تحمل گلوکز ۳ ساعت پس از غذا اضافه می شود).

تست تحمل گلوکز خوراکی GTT

سطح قند خون ناشتا در صورت تکرار اگر بیشتر از ۱۲۶ میلی گرم باشد معمولا برای تشخیص دیابت کافی است ولی اگر مشکوک بوده و علائم بالینی به نفع دیابت باشند تست تحمل خوراکی یا وریدی انجام میشود. عدم تحمل گلوکز در بیمارانی با ترشح بیش از حد هورمونهای که روی گلوکز اثر دارند هم ایجاد می شود. مثل بیماران با سندرم کوشینگ- فئوکروموسیتوما- آکرومگالی- آلدوسترونسم و پرکاری تیروئید.

بیماران با نارسایی مزمن کلیه - پانکراتیت حاد- میکسدم- لیپوپروتئینمی تیپ ۴- عفونت با سیروز هم تست تحمل غیر طبیعی دارند.

این آزمایش در موارد زیر انجام میشود:

- ۱- شک به دیابت
- ۲- بیماران با سابقه خانوادگی دیابت

- ۳- افراد خیلی چاق
- ۴- بیماران با سابقه عفونتهای راجعه- زنان با عفونتهای تکراری قارچی واژن
- ۵- بیماران با زخم های دیر بهبود یابنده
- ۶- زنانی که سابقه زایمان نوزاد درشت - زایمان زودرس- مرده زایی- سقط خودبخودی یا مرگ نوزادی دارند.
- ۷- اپی زودهای غیر قابل توجه هیپوگلیسمی
- ۸- گلوکزوری یا هیپرگلیسمی گذرا در خلال حاملگی- جراحی- ضربه- استرس- سکته قلبی
- ۹- ناتوانی جنسی در مردان

Hb A1C

هموگلوبین گلیکوزیله به هموگلوبینی اطلاق می شود که گلوکز در یک روند تدریجی و غیر آنزیمی روی آن نشسته باشد.

تشخیصهای افتراقی افزایش هموگلوبین گلیکوزیله:

- ۱- دیابت قندی ضعیف کنترل شده
 - ۲- بیماران دیابتی جدیداً" تشخیص داده شده
 - ۳- هیپرگلیسمی های غیر دیابتی (مثل استرس حاد- سندرم کوشینگ- فنوکروماسیتوما- گلوکاگونوما- درمان با کورتیکواستروئید- آکرومگالی)
 - ۴- بیمارانی که طحال برداری شده اند
 - ۵- افزایش تری گلیسریدهای سرم
 - ۶- نارسایی مزمن کلیه با یا بدون همودیالیز
 - ۷- کم خونی فقر آهن
 - ۸- مصرف الکل
 - ۹- مسمومیت با سرب و تریاک
 - ۱۰- درمان با سالیسیلات
- بیشتر از حد طبیعی ۱۱F- هموگلوبین