

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ КРОВИ, ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И МОЧЕ (КАТ.№ В-11002)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 08.12.2011 г. № 8036-Пр/11
РУ № ФСР 2011/12478 от 08.12.2011 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для фотометрического количественного определения содержания глюкозы в сыворотке, плазме крови, цельной крови и моче в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 500 определений при расходе рабочего реагента 1 мл на 1 определение.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Глюкоза окисляется кислородом в присутствии фермента глюкозооксидазы с образованием эквивалентного количества перекиси водорода, которая определяется по реакции окислительного азосочетания 4-аминоантипиринна и *n*-гидроксibenзолсульфокислоты, катализируемой пероксидазой. Интенсивность окраски раствора пропорциональна содержанию глюкозы.

СОСТАВ НАБОРОВ

Реагент 1 (Р1). Буферно-хромогенная смесь30 мл
Реагент 2 (Р2). Ферментно-хромогенная смесь0,6 г
Реагент 3 (Р3). Антикоагулянт20 мл
Калибратор глюкозы, 10 ммоль/л 5 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 0,5 ммоль/л.
Линейность – от 2 до 20 ммоль/л с отклонением не более 5%.
Коэффициент вариации – не более 5%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.
При использовании наборов следует соблюдать правила техники безопасности при работе с химическими веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объём 0,01-1,0 мл, термостат, секундомер, штатив, пробирки, вместимостью 10-20 мл, дистиллированная вода.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка или плазма крови, цельная кровь, моча.
Глюкоза стабильна в плотно закрытом сосуде:
в цельной крови – не более 1 часа при 18-25°C; в супернатанте – 8 часов при 18-25°C, 3 дня при 2-8°C;
в сыворотке (плазме) крови – 1 день при 18-25°C; 7 дней при 2-8°C, 1 месяц при -20°C;
в моче – 2 часа при 2-25°C; 2 дня при -20°C [1].

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

1. Приготовление рабочего реагента
Содержимое флаконов с буферно-хромогенной смесью и ферментно-хромогенной смесью растворить в небольшом количестве дистиллированной воды, довести объём до 500 мл и перемешать. Рабочий реагент стабилен при хранении в посуде из тёмного стекла при 2-8°C не менее 2 месяцев.
2. Приготовление рабочего раствора антикоагулянта
Содержимое флакона с антикоагулянтом развести дистиллированной водой до 500 мл и перемешать. Рабочий раствор антикоагулянта стабилен при хранении при 18-25°C не менее 2 месяцев.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 500 (490-510) нм.
Кювета с длиной оптического пути 10 мм.
Температура анализа 18-25°C или 37°C.

1. Определение содержания глюкозы в сыворотке, плазме крови, моче
Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холодовая проба
Рабочий реагент, мл	1,0	1,0	1,0
Образец, мл	0,01	–	–
Калибратор глюкозы, мл	–	0,01	–
Дистиллированная вода, мл	–	–	0,01

Тщательно перемешать. Инкубировать 10 мин. при 37°C или 30 мин. при 18-25°C. Измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.}$) и калибровочной пробы ($E_{кэл.}$) против холостой пробы.

Окраска стабильна в течение 1 часа.

2. Определение содержания глюкозы в цельной крови

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Рабочий раствор антикоагулянта, мл	0,9	0,9	–
Цельная кровь, мл	0,1	–	–
<i>Тщательно перемешать. Центрифугировать пробы с кровью при 1000 об/мин. в течение 15 мин. Разбавить калибратор глюкозы антикоагулянтом в 10 раз и внести в пробирки:</i>			
Рабочий реагент, мл	1,0	1,0	1,0
Супернатант, мл	0,1	–	–
Калибратор, разбавленный антикоагулянтом, мл	–	0,1	–
Дистилл. вода, мл	–	–	0,1

Инкубировать 10 мин. при 37°C или 30 мин при 18-25°C. Измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.}$) против холостой пробы.

Окраска стабильна в течение 1 часа.

РАСЧЁТ

Содержание глюкозы **C** в анализируемой пробе рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{обр.} \cdot 10}{E_{кал.}} \text{ ммоль/л,}$$

где **10** – концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

Содержание глюкозы в суточной моче рассчитать по формуле:

$$A = C \cdot V,$$

где **A** – содержание глюкозы в суточной моче, ммоль/сут.,

C – содержание глюкозы в исследуемой пробе мочи, ммоль/л,

V – количество суточной мочи, л/сут.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При хранении или транспортировании набора при низкой температуре в буферно-хромогенной смеси может выпасть кристаллический осадок. Для его растворения флакон можно нагреть в тёплой воде.

2. При хранении рабочего реагента развивается слабо-розовая окраска, которая не мешает проведению анализа; допустимые фоновые значения оптической плотности рабочего реагента при измерении в кювете с длиной оптического пути 10 мм – 0,15 о.е.п.

3. Если содержание глюкозы в исследуемой пробе больше 20 ммоль/л, образец необходимо разбавить дистиллированной водой в 4 раза. Анализ повторить, величину рассчитанной концентрации умножить на 4.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам и моче, аттестованным данным методом.

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	500 (490-510)
Измерение против	Рабочего реагента
Температура реакции	37°C или 18-25°C
Единица измерения	ммоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, ммоль/л	10
Соотношение реагент/проба	100:1
Время реакции, сек.	1800 (18-25°C)* 600 (37°C)
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	0,15
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0,0
Границы линейности, ммоль/л	2,0-20,0
Максимум нормы, ммоль/л	6,10**
Минимум нормы, ммоль/л	3,88**

* Если анализируемые пробы готовятся вручную и инкубируются вне анализатора (при работе на одноканальных анализаторах) необходимо ставить время реакции 0 сек.

** Приведены нормальные величины для сыворотки крови.

В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с наборами «ГлюкоСтар» на вашем анализаторе.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Сыворотка и плазма	3,88-6,10 ммоль/л
Цельная кровь	3,33-5,55 ммоль/л
Моча	0,72 ммоль/сут.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Транспортирование набора должно производиться всеми видами крытых транспортных средств при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование набора при температуре до +35°C не более 15 дней. Допускается однократное замораживание.

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев), при температуре до +35°C – не более 15 дней. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора. Калибратор глюкозы после вскрытия флакона при 2-8°C – не более 3 месяцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 102-106.