

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ, ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И МОЧЕ.
КОМПЛЕКТАЦИЯ 2 (КАТ.№№ В-11081, В-11082, В-11083, В-11084, В-11085)**

Утверждена приказом Росздравнадзора от 07.12.2018 г. № 8036-Пр/11
РУ № РЗН 2018/7858 от 07.12.2018 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 от 250 до 1000 определений при расходе 1 мл Реагента 1 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-аминоантипирин и *n*-гидроксibenзолсульфонокислоты, катализируемой пероксидазой. Интенсивность окраски раствора пропорциональна содержанию глюкозы.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). Фосфатный буфер – 0,25 моль/л, натриевая соль *n*-гидроксibenзолсульфонокислоты – 0,02 моль/л, 4-аминоантипирин – 0,001 моль/л, глюкозооксидаза – 12000 Е/л, пероксидаза – 1000 Е/л.

Реагент 2 (Р2). Антикоагулянт, концентрат.

Калибратор глюкозы, 5,55 ммоль/л.

Кат.№ Фасовка

В-11081 1. Р1 4x100 мл + Р2 1x20 мл + калибратор 1x5 мл
В-11082 2. Р1 1x250 мл + Р2 1x10 мл + калибратор 1x5 мл
В-11083 3. Р1 2x250 мл + Р2 2x10 мл + калибратор 1x5 мл
В-11084 4. Р1 4x250 мл + Р2 2x20 мл + калибратор 1x10 мл
В-11085 5. Р1 1x1000 мл + Р2 1x40 мл + калибратор 1x10 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 0,5 ммоль/л.

Линейность – от 1 до 22 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 набора 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 5-10 мл, дистиллированная вода.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка или плазма крови, цельная кровь, моча.

Глюкоза стабильна в плотно закрытом сосуде:

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

Приготовление рабочего раствора антикоагулянта
Содержимое флакона с реагентом 2 развести дистиллированной водой до 250 мл (фасовки 2, 3), или до 500 мл (фасовки 1, 4), или до 1000 мл (фасовка 5). Рабочий раствор антикоагулянта стабилен при 2-8°C в течение всего срока годности набора в герметично закрытом флаконе.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 500 (490-510) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 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	Холостая проба
Реагент 1, 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 ($E_{кал.}$) 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>			
Реагент 1, мл	1,0	1,0	1,0
Супернатант, мл	0,1	–	–
Калибратор, разбавленный антикоагулянтом, мл	–	0,1	–
Дистилл. вода, мл	–	–	0,1

КлиниТест-Глюкоза

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:

$$C = \frac{E_{обр.} \cdot 5,55}{E_{кал.}} \text{ ммоль/л,}$$

где 5,55 – 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.

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	500 (490-510)
Измерение против	Реагента 1
Температура реакции	37°C или 18-25°C
Единица измерения	ммоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, ммоль/л	5,55
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	1,0-22,0
Максимум нормы, ммоль/л	6,4**
Минимум нормы, ммоль/л	3,3**

*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 набором «КлиниТест-Глюкоза» на вашем анализаторе.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При хранении реагента 1 развивается слабо-розовая окраска, которая не мешает проведению анализа; допустимые фоновые значения оптической плотности Реагента 1 при измерении в кювете с длиной оптического пути 10 мм – 0,15 о.е.п.
2. Если содержание глюкозы в исследуемом образце больше 22 ммоль/л образец необходимо разбавить дистиллированной водой в 4 раза. Анализ повторить, величину рассчитанной концентрации умножить на 4.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

Аскорбиновая кислота до 0,15 г/л, билирубин до 0,04 г/л не влияют на точность анализа. Вещества в моче, способные вмешиваться в пероксидазную реакцию, в частности, мочевая и аскорбиновая кислоты и билирубин в концентрациях, превышающих физиологическую норму, гемоглобин, тетрациклины, глутатион приводят к получению ложноотрицательных значений.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Сыворотка	3,3-6,4 ммоль/л
Плазма	3,3-6,2 ммоль/л
Цельная кровь	3,3-5,55 ммоль/л
Моча	≤ 0,5 ммоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев), при 18-25°C – не более 5 дней. Допускается однократное замораживание. 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.

УНИЧТОЖЕНИЕ И УТИЛИЗАЦИЯ

Уничтожение и утилизацию наборов с истекшим сроком годности, а также использованных наборов производить по СанПиН 2.1.7.2790-10, класс отходов А. Утилизацию реагентов и рабочих растворов производить стократным разбавлением проточной водопроводной водой и сливом через промышленную канализацию. Остаток упаковок вывозится как производственный или бытовой мусор.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

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

ЛИТЕРАТУРА

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