

Для научных исследований

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ, ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И МОЧЕ ОРТО-ТОЛУИДИНОВЫМ МЕТОДОМ (КАТ.№ В-11061)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для колориметрического количественного определения содержания глюкозы по реакции с орто-толуидином в сыворотке, плазме, цельной крови и моче в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 100 определений при конечном объёме реакционной смеси 2,5 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В кислой среде при повышенной температуре глюкоза образует с орто-толуидином комплексное соединение сине-зелёного цвета. Интенсивность окраски раствора пропорциональна концентрации глюкозы в исследуемой пробе.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1. Орто-толуидиновый реактив: 10% раствор орто-толуидина в 80% уксусной кислоте.....250 мл
 Реагент 2. Трихлоруксусная кислота (ТХУ), 3%.....100 мл
 Калибратор глюкозы, 5,55 ммоль/л..... 5 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 1 ммоль/л.

Линейность – от 1 до 16 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 едкими и агрессивными веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, дозаторы, позволяющие отбирать объём 0,1 - 3,0 мл,

пробирки объёмом 10-20 мл, водяная баня, секундомер, центрифуга, штатив, 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].

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 620 нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции с орто-толуидиновым реактивом 100°C.

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

1. Анализ образцов крови

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холодная проба
Образец, мл	0,1	–	–
Калибратор глюкозы, мл	–	0,1	–
3% раствор ТХУ, мл	0,9	0,9	–

Пробы тщательно перемешать и центрифугировать при 1500 об./мин. в течение 10-15 минут. Отобрать супернатант и внести в пробирки:

Супернатант, мл	0,25	0,25	–
Орто-толуидиновый реактив, мл	2,25	2,25	2,25

Перемешать, закрыть алюминиевой фольгой или пробками, поместить в кипящую баню точно на 8 минут, быстро охладить и измерить оптическую плотность опытной ($E_{обр.}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.}$) относительно холостой пробы.

Окраска стабильна не менее 3 часов.

1. Анализ образцов мочи

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Образец, мл	0,25	–	–
Калибратор глюкозы, мл	–	0,25	–
Дистилл. вода, мл	–	–	0,25

Орто-толуидиновый реактив, мл	2,25	2,25	2,25
-------------------------------	------	------	------

Перемешать, закрыть алюминиевой фольгой или пробками, поместить в кипящую баню точно на 8 минут, быстро охладить и измерить оптическую плотность опытной ($E_{обр.}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.}$) относительно холостой пробы.

Окраска стабильна не менее 3 часов.

РАСЧЁТ

Содержание глюкозы C рассчитать по формуле:

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

где **5,55** – концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При содержании глюкозы в анализируемом образце больше 20 ммоль/л образец развести дистиллированной водой в 2 раза. Анализ повторить, величину рассчитанной концентрации умножить на 2.
2. К каждой серии анализов калибровочную пробу ставить обязательно.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно

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

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора.

Калибратор после вскрытия допускается хранить не более 3 месяцев при температуре 2-8°C.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. проф. Н.У. Тица, М., 1997, "Лабинформ".