

ІНСТРУКЦІЯ
для медичного застосування
Набір реактивів для визначення
концентрації глюкози в біологічних рідинах глюкозооксидазним методом
(200 визначень) ТУ У 24.4-20650786-007:2007

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення концентрації глюкози в біологічних рідинах уніфікованим ферментативним методом в клініко-діагностичних, біохімічних лабораторіях.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Глюкоза в присутності ферменту глюкозооксидази окислюється киснем повітря з утворенням в процесі реакції пероксиду водню. Пероксид водню окислює хромоген, перетворюючи його в забарвлену сполуку. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації глюкози в пробі.

СКЛАД НАБОРУ

1. Ферментна суміш реактивів (суха):
 - глюкозооксидаза – не менше 3000 од. акт.
 - пероксидаза – не менше 2000 од. акт.
 - 4-аміноантипирин – 20 мг.
 - фосфатний буфер – 2г.
2. Розчин фенолу 10 мМоль/л – 4 мл
3. Розчин стабілізатора – 4 мл.
4. Калібрувальний розчин глюкози 10 мМоль/л – 5 мл

Примітка. Набір може комплектуватись антикоагулянтом для приготування 500 мл розчину. Розведення антикоагулянту вказано на етикетці.

Аналітичні характеристики набору

Лінійність:

від 2 до 25 мМоль/л – при співвідношенні реагент/зразок 100/1

від 1 до 18 мМоль/л – при співвідношенні реагент/зразок 50/1

Коефіцієнт варіації: не більше 2%.

Час інкубації: 15 хв при t 37°C.

Нормальні величини вмісту глюкози:

сироватка, плазма: 4,22 – 6,11 мМоль/л

капілярна кров: 3,38 – 5,55 мМоль/л

сеча: не більше 1,1 мМоль/л

Для оцінки правильності визначення можна використовувати контрольні сироватки та стандарти глюкози.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧОГО РОЗЧИНУ

В колбу на 200 мл влити приблизно 150 мл дистильованої води або фізіологічного розчину, кількісно додати стабілізатор, розчин фенолу та перемішати. Додати ферментну суміш реактивів, перемішати до повного розчинення кристалів не струшуючи. Довести дистильованою водою чи фізіологічним розчином до мітки. Зберігати в холодильнику до 14 днів при t +2 +8°C в герметично закритому флаконі із темного скла.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. Визначення вмісту глюкози в сироватці та плазмі крові

Для аналізу використовувати негемолізовану сироватку.

Внести в пробірки досліджувані біологічні рідини і реагенти згідно таблиці №1.

Таблиця №1

Реагенти, мл	Дослідна проба, мл	Калібрувальна проба, мл	Холоста проба, мл
Сироватка або плазма крові	0,01	-	-
Робочий розчин	1	1	1
Калібрувальний розчин глюкози 10 мМоль/л	-	0,01	-
Фізіологічний розчин	-	-	0,01

Пробірки з пробами інтенсивно струснути вручну та інкубувати не менше 15 хвилин в термостаті при t +37°C (без термостату, при нормальних кліматичних умовах +18°C+25°C інкубувати не менше 25 хвилин). Після закінчення інкубації в кожному пробі додати 1 мл охолодженої дистильованої води або охолодженого фізіологічного розчину і перемішати. Після цього виміряти величину оптичної щільності дослідної та калібрувальних проб проти холостої пробі при довжині хвилі 510 нм або відповідному світлофільтрі (зеленому).

Розрахунок концентрації глюкози в пробах провести по формулі:

$$C = E_d/E_k \cdot 10, \text{ де}$$

C – концентрація глюкози, ммоль/л;

Ед і Ек – оптичні щільності дослідної та калібрувальної проб відповідно, од. оптичної щільності.

При визначенні концентрації глюкози в плазмі крові, отриманій з використанням антикоагуляційного розчину, необхідно враховувати коефіцієнт розведення крові антикоагулянтном.

2. Визначення глюкози в капілярній крові

Підготовка до аналізу: внести в пробірки зразки крові і реагенти відповідно схеми представленої в таблиці №2.

Таблиця №2.

Реагенти, мл	Дослідний розчин, мл	Калібрувальний розчин, мл
Кров	0,1	-
Фізіологічний розчин	1	1
Калібрувальний розчин глюкози, 10 мМоль/л	-	0,1

Вміст пробірок перемішати. Дослідний розчин, що містить кров, центрифугувати 5 хвилин при 1500 об/хв. Надосадову рідину перенести в чисту пробірку і використовувати для аналізу.

Аналіз проводять по схемі представленої в таблиці №3.

Таблиця №3

Реагенти, мл	Дослідна проба, мл	Калібрувальна проба, мл	Холоста проба, мл
Робочий розчин	1	1	1
Надосадова рідина	0,1	-	-
Калібрувальний розчин	-	0,1	-
Фізіологічний розчин	-	-	0,1

Пробірки з пробами інтенсивно струснути вручну та інкубувати не менше 15 хвилин в термостаті при $t +37^{\circ}\text{C}$. Після закінчення інкубації в кожену пробу додати по 1 мл охолодженого фізіологічного розчину або дистильованої води і перемішати. Після цього виміряти величину оптичної щільності дослідної та калібрувальних проб проти холостої проби при довжині хвилі 510 нм або відповідному світлофільтрі (зеленому). Розрахунок концентрації глюкози проводять аналогічно випадку з сироваткою крові.

3. Визначення глюкози в сечі

а) **Якісне визначення.** До розчину робочого реактиву (0,3 мл) додають 0,01мл сечі, інкубують 20 хвилин. Проби які викликали почервоніння реакційної суміші вважаються позитивними і можуть бути проаналізовані на кількісний вміст глюкози.

б) **Кількісне визначення** глюкози в сечі проводять по тій же схемі, що і визначення концентрації глюкози в сироватці крові.

Примітка.

1. Аналіз рекомендується проводити серійно по 10 проб з постановкою в кожній серії калібрувальної проби. Розрахунок концентрації глюкози в кожній серії проводити по своїй калібрувальній пробі.

2. В залежності від об'єму кювети, що використовується, кількість реагентів можна змінити. При цьому відношення об'єму проби до об'єму робочого розчину повинно складати 1:100.

3. При концентрації глюкози в пробі вище 25 мМоль/л біологічну рідину (кров, сироватку, плазму, сечу) розвести фізіологічним розчином в два рази. Провести повторне визначення, результат помножити на два.

4. Сироватку з високим вмістом білірубину необхідно попередньо депротейнізувати.

ТЕРМІН І УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Реактиви, з яких складається набір, зберігаються при температурі $+2+8^{\circ}\text{C}$. Термін придатності набору 12 місяців від дня виготовлення. Не застосовувати після закінчення терміну придатності.

Виробник. ТОВ "Генезіс", Україна.

Адреса. 27503, м.Світловодськ, Кіровоградська обл., вул.Єгорова, 41.