

После каждого взятия крови пробы центрифугируют в течение 5 мин при температуре 5°C и при величине относительного центробежного ускорения (ОЦУ), равной 1500 g (Примечание 3). От каждой пробы отбирают, например, по 10 мкл плазмы и переносят в микрокювету плоскодонного 96-луночного планшета, который можно хранить при температуре от 6 до 8°C до окончания испытания.

Перед определением концентрации глюкозы в каждую микрокювету с плазмой добавляют по 240 мкл готового энзимо-хромогенного набора, например, реактива «GLUCOSE Liquicolor» или аналогичного. Планшеты инкубируют при температуре (37 ± 1) °C не менее 20 мин.

Измерение оптической плотности проводят при длине волны 492 нм. В качестве раствора сравнения используют стандартный раствор глюкозы с концентрацией 5,55 ммоль/л (100 мг %), входящий в состав готового энзимо-хромогенного набора.

Концентрацию глюкозы (с) в крови рассчитывают по формуле:

$$c = \frac{A}{A_0} * 100 \text{ мг \%}, \text{ где}$$

A - оптическая плотность пробы;

A₀ - оптическая плотность глюкозы в растворе сравнения.

Примечание 1

Приготовление основных растворов СО и ИО инсулина или его аналога.

Навеску СО инсулина растворяют в 0,2 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты до полного растворения субстанции, а затем добавляют растворитель для получения раствора с концентрацией инсулина 100 МЕ/мл. В качестве растворителя используют 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной, разведенной в 33,3 раза раствором натрия хлорида 0,9% для инъекций.

Основной раствор следует хранить при температуре от 2 до 8°C. Замораживание не допускается. Раствор должен быть прозрачным.

При определении биологической активности субстанции инсулина основной раствор готовят таким же образом, что и основной раствор СО. Разведение субстанции проводят, исходя из величины биологической активности инсулина с учетом фактического содержания влаги.