尿葡萄糖酶法测定试剂盒 E1009

描述：尿糖是指尿液中的糖类，主要是指尿中的葡萄糖。肥胖、肾脏疾病、糖尿病等都能够使血糖升高，尿糖含量也可能升高。正常人只有当血糖超过 160～180mg/dl 时，糖才能较多地从尿液中排出，形成尿糖。该试剂盒采用葡萄糖氧化酶法，是世界卫生组织和中国《全国临床检验操作规程》推荐的临床检测方法。经过改良后，检测的灵敏度比普通方法提高约 10 倍，下限可达到 5~10μmol/L，线性范围 10~20000 μmol/L，胜任各种临床和基础研究的实验测量。

原理：根据 Trinder 反应原理 [1,2]，葡萄糖在葡萄糖氧化酶(GOD)作用下生成葡萄糖酸和过氧化氢(H_2O_2)；然后用过氧化物酶(POD)催化过氧化氢，使色原物质(4-氨基安替比林)生成醌亚胺，颜色的深浅与葡萄糖浓度成正比。

用途：测定人及动物尿液等样品中的葡萄糖含量。

组成 (205 次微量检测, 50 次 1ml 检测)：

(1) 0.5 ml 葡萄糖标准品 10 mmol/L (等于 180 mg/100 ml)；

(2) 32 ml 试剂 R1；(3) 8 ml 试剂 R2。

4 ℃ 保存 6 个月有效。

所需设备：721、722 型可见光分光光度计、酶标仪、生化分析仪。最佳工作波长 550-555nm, 如仪器无此波长建议优先选用 570nm, 次选 530、490nm。

操作步骤：

一. 工作溶液配制：按 4:1 的比例，取 8 ml 试剂 R1 与 2 ml 试剂 R2 混合得到 10 ml 工作溶液。当天使用或 4℃ 保存 1 周。

二. 标准品稀释：10 mM 葡萄糖标准品用蒸馏水或与样本缓冲液一致的液体稀释为 2000、***1000***、***500***、***250***、***125***、62.5、31.25、15.625μM。注意设置 0 浓度对照反应管。由于葡萄糖测定反应的线性关系甚好且范围很宽，通常设置黑体标记的 4 管即可，一般不需要设置大于 2~10mM 的标准管，以此得到的标准曲线用来测定大于 2 mM 葡萄糖浓度通常不会失真。世界卫生组织(WHO)推荐也可仅设置单一浓度的标准管。**注意：不能使用用户自己简单配制的葡萄糖标准溶液。**

三、葡萄糖含量测定：

1. 参见下表加样。先加标准品或待测样品，后加工作溶液。可依据葡萄糖浓度高低微量调整样品与工作液体积比例。超出线性范围可适当稀释。
2. 37℃ 反应 20min (15~30min)或 25℃ 室温反应 30 min 但灵敏度略降。反应平衡后颜色在 60 min 内稳定。
3. 先用蒸馏水+工作液空白管调零，然后测定各管 OD5 值。
4. 绘制标准曲线并计算葡萄糖浓度。
   附 Excel 作图步骤：各标准管 OD 值为 *y* 轴，浓度为 *x* 轴。(1)鼠标左键圈住数据，点击做图向导，选择-散点图-，点击-完成-。(2)鼠标右键点图上的某一点，点击-添加趋势线-，点击-选项-，点击-显示公式-和-R^2值-。
5. 如果仅用单一标准管：葡萄糖浓度(mmol/L) = 标准品浓度 × (样品管 OD－空白管 OD) / (标准管 OD－空白管 OD)。

加样表

(可微量调整样品与工作液体积比例)

96 孔微板测试，反应体积 200μl				比色杯测试，反应体积 800 μl			
	空白管	标准管	样品管		空白管	标准管	样品管
蒸馏水 μl	5			蒸馏水 μl	20		
标准品 μl		5		标准品 μl		20	
标品 μl			5	标品 μl			20
工作溶液 μl	195	195	195	工作溶液 μl	780	780	780

说明：

1. 人空腹血糖参考值3.89-6.11 mmol/L (70-110 mg/dl)，低血糖症临界水平2.7-3.89 mmol/L，高血糖症临界水平6.11-7.22 mmol/L。不同单位之间的换算公式：1 mmol/L = 0.0555 mg/100 ml (dl)；1 mmol/L × 18 = 1 mg/100 ml (dl)。
2. 检测线性范围 0.02~20 mmol/L。浓度超过 20 mmol/L 用蒸馏水或生理盐水稀释 1-2 倍后测量。批内变异系数为 0.7~2.0%，批间变异系数约为 2%。准确度与精密度达到临床检测要求。
3. 《全国临床检验操作规程》指明测定血糖用草酸钾-氟化钠抗凝：每 5ml 血液加 0.2 ml 6%草酸钾-4%氟化钠；其优点是抑制糖酵解和分解，测得的葡萄糖浓度更接近真实；缺点是干扰其它生化检查项目。枸橼酸钠抗凝剂易引起溶血，也干扰许多生化检查项目。如必须用同一份标本做全套生化检测，可采用肝素钠抗凝剂。
4. 尿样应在在 30 分钟内完成测定。血清或血浆仍含大量血细胞，室温下糖酵解旺盛可消耗葡萄糖使测量值降低。室温放置 1 小时葡萄糖含量开始降低，3 小时后明显下降。4 ℃ 保存血样葡萄糖稳定性明显增加。使用血浆测定葡萄糖浓度可能更接近真实浓度。相比之下用血清标本测得的葡萄糖浓度偏低，且随着样品放置时间延长而明显下降。
5. 细胞培养基上清应 2000g 离心 10 分钟，去除细胞的上清测定。

参考文献：

1. Trinder, P. (1969). Annals of Clin. Biochem. 6: 24 – 27.
2. Barham D and Trinder P. (1972). Analyst 97: 142 – 145