

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
От _____ 201__ г.
№ _____



«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ООО «НПФ АБРИС+»
В.М. Марковский

« » 201 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации глюкозы в биологических жидкостях гексокиназо - глюкозо-6-фосфатдегидрогеназным энзиматическим референтным методом
(«ГЛЮКОЗА НК-АБРИС+»)

1. Назначение

Набор предназначен для количественного определения концентрации глюкозы в биологических жидкостях гексокиназо-глюкозо-6-фосфатдегидрогеназным энзиматическим референтным методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 или 250 определений при конечном объеме пробы 1,0 мл.

2. Характеристика набора.

2.1. Принцип метода

β -D-глюкоза + АТФ $\xleftarrow{\text{Гексокиназа}}$ глюкозо-6-фосфат + АДФ

$\text{Глюкозо-6-фосфат} + \text{НАД} \xleftarrow{\text{Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа}} \text{глюконат-6-фосфат} + \text{НАДН}$

Инструкция составлена директором по науке ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н. Ю.Г.Поповым и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Количество образовавшегося НАДН пропорционально концентрации глюкозы в исследуемом образце. Данный метод обладает 100% специфичностью по отношению к β -D-глюкозе, так как глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа взаимодействует исключительно с глюкозо-6-фосфатом.

2.2. Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- Буфер, pH 7,6 [Pipes – 100 ммоль/л; АТФ – 4 ммоль/л; НАД⁺ – 3 ммоль/л.] – готов к применению - 1 флакон 100 мл или 1 флакон 250мл;
- Раствор ферментов [Гексокиназа > 1 000 МЕ/л; Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа > 3 000 МЕ/л] – готов к применению - 1 флакон 1,0 мл или 1 флакон 2.5 мл;
- калибратор [β -D-глюкоза – 5,55 ммоль/л] – готов к применению - 1 флакон, 5,0 мл.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора.

3.1. Линейность

Линейная область определения концентрации глюкозы в диапазоне от 1,0 до 30 ммоль/л, отклонение от линейности не более 5%.

3.2. Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.3. Нормальные величины:

сыворотка (плазма крови) – 4,1–5,9 ммоль/л;

моча суточная – < 2,78 ммоль/сутки.

4. Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

При работе с набором необходимо соблюдать "Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР", Москва, 1981 г.

При работе с биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологических жидкостей человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать возбудителей различных инфекций.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- спектрофотометр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- секундомер;

- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с фиксированным или переменным объемом со сменными наконечниками;
- перчатки хирургические резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

1. Сыворотка крови. Быстро отделить от клеток для предупреждения потерь. Образцы стабильны в течение 8 часов при температуре $18-25^\circ\text{C}$ или 3 суток при $2-8^\circ\text{C}$.

2. Плазма крови. Консервант – фторид натрия или иодацетат. Образцы стабильны в течение 24 часов при температуре $18-25^\circ\text{C}$.

3. Моча. Собирать в темную посуду на льду. Консерванты для суточной мочи – 5 мл ледяной уксусной кислоты или 5 г бензоата или фторида натрия.

4. Ликвор. Исследовать немедленно во избежание ложно низких результатов. Хранить при -20°C .

7. Проведение анализа

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА:

Смешать буфер и раствор ферментов в соотношении 100 : 1. Рабочий реагент стабилен не менее 3 месяцев при температуре хранения $2-8^\circ\text{C}$ или 2 недели при $18-25^\circ\text{C}$.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА:

Внести в пробирку	Опытная проба	Калибратор	Контроль на реактивы
Рабочий реагент, мл	1,0	1,0	1,0
Исследуемый образец, мл	0,01	---	---
Калибратор, мл	---	0,01	---
Вода, мл	---	---	0,01

Смешать и инкубировать 5 минут при температуре 37°C или 10 минут при температуре $18-25^\circ\text{C}$. По окончании инкубации измерить оптическую плотность пробы ($E_{\text{пробы}}$) и калибратора ($E_{\text{калибратора}}$) против контроля на реактивы при $\lambda = 340 \text{ нм}$ и $d = 1 \text{ см}$. Окраска стабильна в течение 30 минут.

8. Расчеты:

1. В сыворотке (плазме) крови, моче, ликворе

$$C = 5,55 \times \frac{E_{\text{пробы}}}{E_{\text{калибратора}}} \quad (\text{ммоль/л}).$$

2. В суточной моче

$$C = 5,55 \times \frac{E_{\text{пробы}}}{E_{\text{калибратора}}} \times V \text{ (ммоль/сутки)},$$

где V – объем суточной мочи, л.

9. Условия хранения и эксплуатации набора

Срок годности набора - 12 месяцев.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в темном месте при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.

Для проведения процедуры анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в ООО «НПФ АБРИС+» по адресу: 196135, Россия, Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, Россия, С.Петербург, пр. Гагарина, 65 ; тел./факс:(812) 727-24-40, 727-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>.

Д.м.н., профессор

А.В.Козлов

Директор по науке
ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н.

Ю.Г.Попов

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Минздравсоцразвития»
д.м.н., профессор

В.В. Долгов

