

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2011 г. № _____

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



В.А. Схолль-Энгбертс

2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации глюкозы
в цельной крови энзиматическим колориметрическим методом с депротеинизацией

(ГЛЮКОЗА-ВИТАЛ)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения содержания глюкозы в цельной крови человека глюкозооксидазным методом с депротеинизацией, в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100, 250 или 500 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

При окислении β -D-глюкозы кислородом воздуха под действием глюкозооксидазы образуется эквимольное количество перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогенные субстраты в присутствии фенола с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации глюкозы в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 510 (490-540) нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: фосфатный буфер, pH 7,8, 100 ммоль/л, с добавлением фенола, 11 ммоль/л - 2 флакона (по 100 или по 250 мл) или 4 флакона (по 250 мл);
- реагент 2: лиофилизированная смесь (конечная концентрация в рабочем реагенте: глюкозооксидаза, 3000 ед/л; пероксидаза, 180 ед/л; 4-аминоантипирин, 0,016 ммоль/л, альбумин бычий сывороточный, 0,005%) - 2 или 4 флакона;
- реагент 3: кислота хлорная, 3,3%, готова к использованию - 1 флакон (50 мл, 125 мл или 250 мл);
- калибратор: калибровочный раствор глюкозы, 10 ммоль/л, в 0,15% растворе бензойной кислоты - 1 флакон (2,0 мл) или 2 флакона (по 2,0 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации глюкозы в диапазоне от 1 до 30 ммоль/л не превышает 5%.

Чувствительность определения - не более 0,5 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов измерений - не более 5%.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным материалам с известным содержанием глюкозы, аттестованным данным методом.

Нормальные величины концентрации глюкозы в цельной крови человека составляют: 3,9-5,6 ммоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента.

ОБРАЗЦЫ

Цельная кровь (с депротенизацией).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

Реагент 1 содержит токсичный компонент - фенол. При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. В случае попадания реагента на них следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

Меры предосторожности – соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г).

При работе с кровью необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 510 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 490 – 520 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- центрифуга, развивающая ускорение 900 g;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 и 2,0 мл;
- пробирки вместимостью 5,0 мл;
- физиологический раствор (0,9% раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые;
- вода дистиллированная.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента

Содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в одном флаконе реагента 1 и тщательно перемешать. Для получения оптимальных результатов рекомендуется после полного растворения лиофилизата выдержать рабочий реагент в течение 20 мин при комнатной температуре (+18-25 °С).

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8 °С не более 6 мес. Допускается розовая окраска рабочего реагента.

Реагент 3 и калибратор готовы к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Подготовить по одной пробирке вместимостью 5,0 мл для каждой анализируемой пробы цельной крови (опытные пробы), одну пробирку для калибратора (калибровочная проба) и одну пробирку для контрольной (холостой) пробы. Во все пробирки внести по 0,5 мл реагента 3. В пробирки с опытными пробами добавить по 0,05 мл анализируемой крови; в пробирку с калибровочной пробой - 0,05 мл калибратора, в пробирку с контрольной (холостой) пробой - 0,05 мл дистиллированной воды. Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать при комнатной температуре в течение 10 мин. После окончания инкубации центрифугировать только опытные пробы при 900 g в течение 5-10 мин при комнатной температуре; супернатант отделить.

Внести в пробирки вместимостью 5,0 мл реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Супернатант	0,1	-	-
Раствор для калибровочной пробы	-	0,1	-
Раствор для холостой пробы	-	-	0,1
Рабочий реагент	2,0	2,0	2,0

Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать в течение 15 мин при комнатной температуре (+18-25°C). Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 510 (490-520) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Окраска стабильна в течение 1 часа после окончания инкубации.

РАСЧЕТЫ

Концентрацию глюкозы в цельной крови определить по формуле:

$$C = \frac{E_{оп}}{E_{кал}} \times 10$$

где: C - концентрация глюкозы в анализируемой пробе, ммоль/л;

$E_{оп}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн;

$E_{кал}$ - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн;

10 - концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°C не более 10 сут.

Срок годности набора - 18 мес.

Реагент 3 после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре в темном месте в течение срока годности набора при условии достаточной герметичности флакона.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8 °C не более 3 мес. при условии достаточной герметичности флакона.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8 °C не более 6 мес.

Если концентрация глюкозы в крови превышает 30 ммоль/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 2 раза, повторить определение и полученный результат умножить на 2.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27.

Тел: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

116000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор

ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»
доктор мед. наук, профессор



Специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
«РМАПО Росздрава»

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью
Всего 3 листа

Ген. директор
Схолль-Энгбертс Е.Н.

