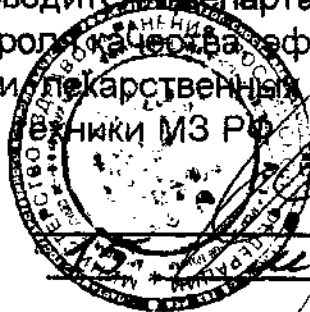


УТВЕРЖДАЮ

Зам. Руководителя Департамента государственного
контроля качества, эффективности, безопас-
ности лекарственных средств и медицин-
ской техники МЗ РФ



Д. В. Рейхарт

мая 2001 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения глюкозы
глюкозооксидазным методом.

ФОТОГЛЮКОЗА

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по
лабораторным реагентам Комитета по новой медицинской технике
Минздрава России (протокол N 3 от 26 марта 2001 г.)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения содер-
жания глюкозы в сыворотке, плазме и цельной крови человека глюко-
зооксидазным методом в клинико-диагностических и биохимических
лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 определений при расходе
2,0 мл рабочего реагента на 1 анализ или 200 определений при рас-
ходе 1,0 мл рабочего реагента на 1 анализ и пригоден для различных
вариантов микроанализа.

ПРИНЦИП МЕТОДА

При окислении β -D-глюкозы кислородом воздуха при каталиги-
ческом действии глюкозооксидазы (ГО) образуется эквимольное ко-
личество перекиси водорода. Под действием пероксидазы (ПО) пере-
кись водорода окисляет 4-аминоантипирин (4-ААП) в присутствии фе-
нольных соединений в окрашенное соединение, интенсивность окра-
ски которого пропорциональна концентрации глюкозы в анализируе-
мом образце и измеряется фотометрически при длине волны 500 (490-
540) нм.

СОСТАВ НАБОРА:

- Буфер-субстрат: калиевые или аммониевые соли фосфорной
кислоты (0,1 ммоль/л), 4-ААП (50 ммоль/л), 8-оксихинолин (0,75
ммоль/л) – 2 таблетки;
- Ферменты: ГО (2500 ед.), ПО (500 ед.) - 1 таблетка;
- Калибратор: калибровочный раствор глюкозы, 10,0 ммоль/л в
0,15% растворе бензойной кислоты - 1 флакон (5,0 мл);
- Антикоагулянт: натрий хлористый (9 г/л), натрий оксалат (0,02
моль/л) - 2 таблетки

Составлена: к. х. н. Н. И. Журавлевой - главным специалистом ООО "ИМПАКТ"
проф. В. Н. Титовым – руководителем лаборатории ИКК РКНПК МЗ РФ

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейность при определении глюкозы в диапазоне концентраций от 2,0 до 25,0 ммоль/л, отклонение от линейности - не более 5 %. Чувствительность - не более 1,0 ммоль/л. Коэффициент вариации - не более 5%.

Для проверки правильности определений рекомендуется использовать отечественные или зарубежные контрольные сыворотки, аттестованные данным методом.

Нормальные величины содержания глюкозы в сыворотке и плазме крови человека — 3,5 - 6,2 ммоль/л, в цельной крови – 2,7 – 5,7 ммоль/л.

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Буфер-субстрат содержит токсичные компоненты. При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. В случае попадания следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

При работе с набором 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.

Меры предосторожности - соблюдение "Правил 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).

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизованная сыворотка или плазма крови, цельная кровь. Сыворотку и плазму крови получают обычным образом.

Для определения глюкозы в цельной крови 2 таблетки антикоагулянта растворить в 100 мл дистиллированной воды. Полученный раствор хранить при температуре + 2-8°C. В центрифужную пробирку внести 0,1 мл цельной крови, добавить 0,9 мл раствора антикоагулянта, тщательно перемешать и центрифугировать при 2000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре (+18-25°C). Надосадочную жидкость использовать для анализа.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр, длина волны 500 (490-540) нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- автоматические или полуавтоматические биохимические анализаторы;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,025 - 2,0 мл;
- центрифуга;

- секундомер;
- колбы мерные вместимостью 100 или 200 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\pm 1^{\circ}\text{C}$;
- вода дистиллированная.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента : 2 таблетки Буфер-субстрата поместить в мерную колбу вместимостью 200 мл, добавить 150 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать до полного растворения таблеток. Таблетку Ферменты растворить в 5,0 мл дистиллированной воды, количественно перенести в колбу с Буфер-субстратом и довести дистиллированной водой до метки, тщательно перемешать. Перенести рабочий реагент в посуду из темного стекла.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре $+ 2-8^{\circ}\text{C}$ в посуде из темного стекла не более 5 дней при условии достаточной герметизации.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внести в пробирки анализируемые образцы сыворотки или плазмы крови и реагенты по следующей схеме:

Реагенты, сыворотка (плазма) крови	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл	Контрольная (холостая) проба, мл
Рабочий реагент	2,0	2,0	2,0
Сыворотка (плазма) крови	0,025	-	-
Калибратор	-	0,025	-
Вода дистиллированная	-	-	0,025

Примечание: при использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (отношение сыворотки крови к рабочему реагенту составляет 1 : 80).

Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 25 мин при комнатной температуре ($+18 - 25^{\circ}\text{C}$) или в течение 15 мин при температуре $+37^{\circ}\text{C}$.

После окончания инкубации измерить величину оптической плотности опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы в кюветах с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 500 (490-540) нм.

Окраска проб стабильна в течение 2 ч после окончания инкубации при условии предохранения от прямого воздействия солнечных лучей.

Для цельной крови внести анализируемые образцы и реагенты по следующей схеме:

Реагенты, цельная кровь	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл	Контрольная (холостая) проба, мл
Рабочий реагент	2,0	2,0	2,0
Надосадовая жидкость	0,25	-	-
Калибратор	-	0,025	-
Вода дистиллированная	-	-	0,25

Далее провести определение так, как это указано выше.

РАСЧЕТЫ

Расчет концентрации глюкозы в анализируемых пробах провести по формуле:

$$C = \frac{E_o}{E_k} * 10,$$

где: С - концентрация глюкозы, ммоль/л;

E_o - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

E_k - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

10 - концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Хранение набора должно проводиться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2 - 8 °С в темном месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°С не более 10 дней.

Срок хранения набора — 12 мес.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2 - 8 °С в посуде из темного стекла не более 5 дней при условии достаточной герметизации.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2 - 8 °С в темном месте не более 30 сут.

Раствор антикоагулянта можно хранить при температуре +2-8°С не более 1 мес.

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

По вопросам, касающимся качества набора Фотоглюкоза, следует обращаться в ООО "ИМПАКТ" по адресу:

127018, Москва, ул. Двинцев, 6. Телефон/факс: (095) 113-23-10
и в Институт государственного контроля лекарственных средств НЦ ЭГКПС Минздрава России по адресу:

117246, Москва, Научный проезд, д. 14а. Телефон: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Главный специалист ООО "ИМПАКТ",

канд. хим. наук

Руководитель лаборатории ИКК РКНПК

МЗ РФ, профессор



Н. И. Журавлева



В. Н. Титов