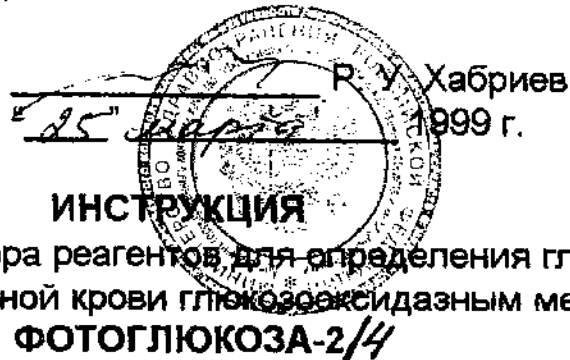


УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Департамента государственного
контроля качества, эффективности и безопасности
лекарственных средств и медицинской техники
МЗ РФ



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения глюкозы в
сыворотке, плазме и цельной крови глюкозооксидазным методом.

ФОТОГЛЮКОЗА-2/4

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по
лабораторным реагентам Комитета по новой медицинской технике
Минздрава России (протокол N 7 от "30" ноября 1998 г.)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения глюкозы
в сыворотке, плазме и цельной крови человека глюкозооксидазным ме-
тодом в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и на-
учно-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 катали-
тическом 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 окрас-
ки которого пропорциональна концентрации глюкозы в анализируемом
образце и измеряется фотометрически при длине волны 500 нм.

СОСТАВ НАБОРА:

- Буферно-ферментно-субстратная смесь, содержащая калие-
вые или натриевые соли фосфорной кислоты (0,1 ммоль/л), ГО (1500
ед.), ПО (500 ед.), 4-ААП (100 ммоль/л), фенольные соединения (16
ммоль/л), стабилизаторы - 4 таблетки;
- Калибратор (калибровочный раствор глюкозы), 10,0 ммоль/л -
1 флакон (2,5 мл);
- Антикоагулянт, содержащий натрий хлористый (9 г/л), натрий
ацетат (0,02 моль/л) - 2 таблетки.

Составлена: Н. И. Журавлевой, к. х. н., главным специалистом ООО "ИМПАКТ",
И. В. Чуриловой, к. х. н., главным специалистом лаборатории биохи-
мии Военно-медицинской академии.

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

Буферно-ферментно-субстратная смесь содержит токсичные компоненты. При работе с ней 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

Негемолизированная 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 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;

- секундомер;
- колбы мерные вместимостью 50, 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 : 1 (или 4) таблетку буферно-ферментно-субстратной смеси поместить в мерную колбу вместимостью 50 (или 200) мл, внести 30 (или 150) мл дистиллированной воды, тщательно перемешать до полного растворения таблетки и довести дистиллированной водой до метки.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^\circ\text{C}$ в посуде из темного стекла не более 10 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	-
Дистиллированная вода	-	-	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 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
Надосадочная жидкость	0,25	-	-
Калибратор	-	0,025	-
Дистиллированная вода	-	-	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;

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

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

10 - концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Хранение набора должно проводиться 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. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок хранения набора — 12 мес.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2 - 8 °С в посуде из темного стекла не более 10 дней при условии достаточной герметизации.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2 - 8 °С в темном месте не более 3 мес.

Раствор антикоагулянта можно хранить при температуре +2-8°С в течение 1 мес.

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

По вопросам, касающимся качества набора Фотоглюкоза-2, следует обращаться в ООО "ИМПАКТ" по адресу:

127018, Москва, ул. Двинцев, 6. Телефон/факс: (095) 113-23-10

и в Государственный научно-исследовательский институт по стандартизации и контролю лекарственных средств Минздрава России по адресу:

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

Главный специалист ООО "ИМПАКТ"

канд. хим. наук



Н. И. Журавлева

Главный специалист лаборатории

биохимии Военно-медицинской академии

канд. хим. наук



И. В. Чурилова