

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от 31.03.2007 г. № 2210-ПД/08

19 ФЕВ 2016

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО "Ольвекс Диагностикум"

С.Н. Чавкин

2007 г.

КОПИЯ ВЕРНА

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации

глюкозы в сыворотке и плазме крови

(ГЛЮКОЗА-6-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор «ГЛЮКОЗА-6-ОЛЬВЕКС» предназначен для количественного определения содержания глюкозы в сыворотке или плазме крови человека энзиматическим гексокиназным методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

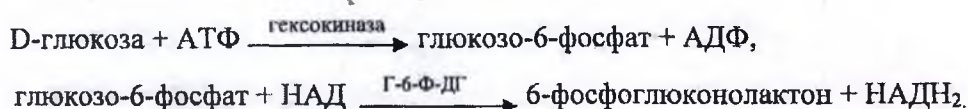
Набор рассчитан на проведение 100 или 200 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Инструкция составлена директором производства ООО «Ольвекс Диагностикум», Ю.М.Кузьменковым и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Принцип метода

D-глюкоза под действием фермента гексокиназы при участии АТФ превращается в глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф). Образовавшийся в ходе данной реакции Г-6-Ф под действием фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-Ф-ДГ) и кофермента НАД превращается в 6-фосфоглюконолактон. Количество образовавшегося НАДН₂ в ходе реакции пропорционально количеству глюкозы в среде инкубации и может быть определено по изменению поглощения при 340 нм.

Схема реакции:



Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буферный раствор), рН 7,6, содержащий пиперазин-1,4-бис(2-этансульфоновая кислота) натриевая соль, 100 ммоль/л; магний уксуснокислый, 10 ммоль/л; аденозин-5'-трифосфат (АТФ), 4,0 ммоль/л; азид натрия, 0,9 г/л; никотинамидадениндинуклеотид (НАД), 0,35 ммоль/л – 1 флакон (100 мл) или 2 флакона (по 100 мл);

- реагент 2 (стабилизированный раствор ферментов), содержащий пиперазин-1,4-бис(2-этансульфоновая кислота) натриевая соль, 100 ммоль/л; азид натрия, 0,9 г/л; гексокиназу, 40000 Ед/л; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, 60000 Ед/л – 1 флакон (1,0 мл) или 2 флакона (по 1,0 мл);

- калибратор, содержащий глюкозу, 5,55 ммоль/л; бензоат натрия, 1,0 г/л; готов к применению – 1 флакон (1,2 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения концентрации глюкозы – в диапазоне от 1,0 до 38,9 ммоль/л, отклонение от линейности - не более 5%.

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

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток, аттестованных данным методом.

Нормальные величины содержания глюкозы в сыворотке и плазме крови 4,1 - 5,9 ммоль/л.

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

Анализируемые образцы

Негемолизированная свежая сыворотка крови или гепаринизированная плазма крови без следов гемолиза.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят азид натрия. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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 набором следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель инфекции.

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, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл и 1,0 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0-10 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

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

Подготовка к анализу

Приготовление рабочего реагента

Перед проведением анализа смешать необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 100:1.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^\circ\text{C}$ в плотно закрытой посуде не более 3 месяцев или при комнатной температуре ($+18-25^\circ\text{C}$) не более 2 недель.

Проведение анализа

Компоненты реакционной среды внести в пробирки или кюветы в соответствии с таблицей.

Таблица

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент, мл	1,00	1,00	1,00
Сыворотка или плазма крови, мл	0,01	-	-
Калибратор, мл	-	0,01	-
Вода дистиллированная, мл	-	-	0,01

Пробы тщательно перемешать и выдержать в течение 5 минут при температуре +37°C или 10 минут при комнатной температуре (+18-25°C). Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Величина оптической плотности раствора стабильна в течение 30 минут после окончания инкубации.

Расчеты

Концентрацию глюкозы в сыворотке или плазме крови (С, ммоль/л) рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{np}}{E_{kal}} \times 5,55 ,$$

где: E_{np} - оптическая плотность анализируемой пробы, ед. опт. плот.;

E_{kal} - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плот.;

5,55 - концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 12 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в плотно закрытом флаконе не более 3 месяцев или при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) в плотно закрытом флаконе не более 2 недель.

Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 3 месяцев или при комнатной температуре не более 2 недель.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 6 месяцев.

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

По вопросам, касающимся качества набора «ГЛЮКОЗА-6-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02;

Факс: (812) 567-84-29

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

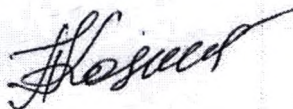
Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор производства
ООО «Ольвекс Диагностикум»



Ю.М.Кузьменков

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики СПбМАПО,
д.м.н., профессор



А.В.Козлов

Пронумеровано, прошнуровано и скреплено печатью
в количестве 6 (шесть) листов

Генеральный директор
ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ



О.В. Тол