

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2007 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Ольвекс-Диагностикум»

Н.Чавкин

2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
глюкозы в крови
(ГЛЮКОЗА-4-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор «ГЛЮКОЗА-4-ОЛЬВЕКС» предназначен для количественного определения содержания глюкозы в цельной (капиллярной или венозной) крови человека энзиматическим колориметрическим 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.

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

Синица
26.10.07

Принцип метода

β -D-глюкоза под действием фермента глюкозооксидазы окисляется до D-глюконо-лактона. Образующаяся в данной реакции перекись водорода при участии фермента пероксидазы способствует окислительному азосочетанию 4-аминоантипирина (4-ААП) и фенола с образованием окрашенного соединения (хинониминный краситель). Интенсивность окраски реакционной среды пропорциональна содержанию глюкозы в исследуемом образце и определяется фотометрически при длине волны 510 (490-540) нм.

Для полного окисления глюкозы в исследуемом образце в среду для инкубации добавлена мутаротаза – фермент, ускоряющий превращение α -формы глюкозы в ее β -форму.

Схема реакции:



Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буферный раствор), pH 7,5, содержащий натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный, 126 ммоль/л; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный, 24 ммоль/л; соль динатриевая этилендиамин-N, N, N', N' - тетрауксусной кислоты 2-водная (трилон Б), 0,38 г/л; фенол, 0,98 г/л – 2 флакона (по 100 мл), или 2 флакона (по 250 мл), или 4 флакона (по 250 мл);

- реагент 2 (лиофилизат), содержащий трис-(гидроксиметил)аминометан гидрохлорид, 30 ммоль/л; азид натрия, 0,25 г/л; 4-аминоантипирин, 20 г/л; бычий сывороточный альбумин (БСА), 20 г/л; пероксидаза, 100000 Ед/л; глюкозооксидаза, 1500000 Ед/л; мутаротаза, 20000 Ед/л – 2 флакона, или 2 флакона, или 4 флакона;

- реагент 3 (хлорная кислота), содержащий хлорную кислоту, 0,33 моль/л; готов к применению - 1 флакон (50 мл), или 1 флакон (125 мл), или 1 флакон (175 мл);

- калибратор, содержащий глюкозу, 10 ммоль/л; бензоат натрия, 1,0 г/л; готов к применению - 1 флакон (3,0 мл), или 1 флакон (3,0 мл), или 1 флакон (5,0 мл).

Аналитические характеристики

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

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

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Окраска стабильна в течение 1 часа.

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

Нормальные величины содержания глюкозы в крови 3,5 - 5,7 ммоль/л. В венозной крови содержание глюкозы на 0,5 ммоль/л меньше, чем в капиллярной.

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

Анализируемые образцы

Капиллярная или венозная кровь человека. Для замедления гликолиза и предотвращения свертывания при заборе крови использовать пробирки, содержащие фторид натрия и антикоагулянт.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят токсичные компоненты - азид натрия, фенол, 4-аминоантипирин и хлорная кислота. 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 510 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 490-540 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 900 g;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие дозировать объемы жидкости 0,05 мл; 0,1 мл; 0,5 мл и 2,0 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

Содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в содержимом одного флакона с реагентом 1 при аккуратном перемешивании. Рабочий реагент готов к применению через 2 минуты после начала растворения.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^\circ\text{C}$ в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

Тщательно закрывать флакон с рабочим реагентом непосредственно после каждого использования реагента.

Подготовка анализируемых образцов к анализу

Пробоподготовку провести в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

Компоненты реакционной среды, мл	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл	Контрольная (холостая) проба, мл
Реагент 3	0,50	0,50	0,50
Кровь	0,05	-	-
Калибратор	-	0,05	-
Вода дистиллированная	-	-	0,05

Пробы тщательно перемешать и выдержать в течение 10 минут при комнатной температуре (+18-25°C), после чего опытные пробы центрифугировать с ускорением 900 g в течение 10 минут при комнатной температуре. Для дальнейшего анализа использовать прозрачную надосадочную жидкость.

Надосадочную жидкость опытной пробы можно хранить в герметично закупоренном флаконе при температуре +2-8°C не более 5 дней.

Проведение анализа

Компоненты реакционной среды внести в пробирки в последовательности, указанной в таблице 2.

Таблица 2

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент, мл	2,0	2,0	2,0
Надосадочная жидкость опытной пробы, мл	0,1	-	-
Надосадочная жидкость калибровочной пробы, мл	-	0,1	-
Надосадочная жидкость контрольной (холостой) пробы, мл	-	-	0,1

Пробы тщательно перемешать и выдержать в течение 20 минут при температуре +37°C. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 510 (490-540) нм при комнатной температуре (+18-25°C) в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Окраска растворов стабильна в течение 1 часа после окончания инкубации при хранении проб в защищенном от света месте при комнатной температуре.

Расчеты

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

$$C = \frac{E_{пр}}{E_{клл}} \times 10 ,$$

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

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

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.

Срок годности набора - 12 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8°C не более 6 месяцев.

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

По вопросам, касающимся качества набора «ГЛЮКОЗА-4-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