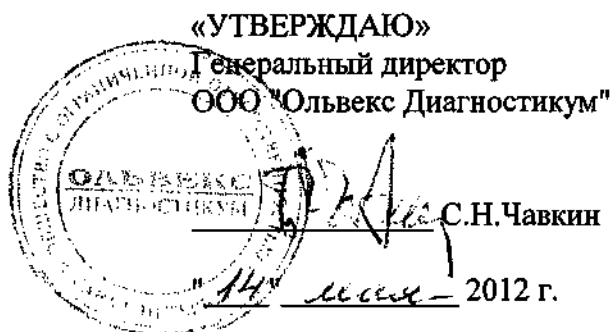


УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2012 г. № _____



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации глюкозы
в крови, сыворотке, плазме крови и моче
(ГЛЮКОЗА-8-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор «ГЛЮКОЗА-8-ОЛЬВЕКС» предназначен для количественного определения содержания глюкозы в крови, сыворотке, плазме крови человека и моче энзиматическим колориметрическим методом в клинической лабораторной диагностике.

Набор рассчитан на проведение 25, 125, 250 или 500 определений при расходе 2,0 мл монореагента на один анализ.

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-АПП) и фенола с образованием окрашенного соединения (хинониминный краситель). Интенсивность окраски реакционной среды пропорциональна содержанию глюкозы в исследуемом образце и определяется фотометрически при длине волны 500 (490-540) нм.

Схема реакции:



Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- монореагент, содержащий ортофосфорную кислоту, 100 ммоль/л; гидроокись натрия 4 N, 180 ммоль/л; трилон Б, 2,0 ммоль/л; фенол, 5,0 ммоль/л; твин-20, 5,0 г/л; глюкозооксидазу, 15000 Е/л; мутаротазу, 200 Е/л; каталазу, 8450 Е/л; 4-аминоантипирин, 0,300 ммоль/л; пероксидазу, 1000 Е/л; гидроокись натрия до рН 7,3; готов к применению - 1 флакон (50 мл), или 1 флакон (250 мл), или 2 флакона (по 250 мл), или 1 флакон (1000 мл).
- калибратор, содержащий глюкозу, 10 ммоль/л; бензойную кислоту, 1,0 г/л; ProClin, 10 мл/л; готов к применению - 1 флакон (5,0 мл), или 1 флакон (5,0 мл), или 1 флакон (5,0 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 цельной крови 3,5 – 5,7 ммоль/л; в сыворотке или плазме крови 4,2 – 6,1 ммоль/л; в моче до 2,8 ммоль/сут или до 0,8 ммоль/л.

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

Анализируемые образцы

Капиллярная или венозная кровь, сыворотка или плазма крови. Отделить от клеточных элементов немедленно! Для замедления гликолиза и предотвращения свертывания при заборе крови использовать пробирки, содержащие фторид натрия и антикоагулянты.

Для проведения анализа содержания глюкозы в цельной крови необходима процедура депротеинизации исследуемого образца раствором хлорной кислоты, который может быть поставлен ООО «Ольвекс Диагностикум» по желанию заказчика (Кислота хлорная для депротеинизации крови: кат. № 005.020).

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят токсичные компоненты – фенол, азид натрия, гидроокись натрия и 4-аминоантипирин. 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.

Утилизация отходов производится путем разбавления их водопроводной водой в соотношении 1:50 и дальнейшим сливом в канализацию, что гарантирует безопасность, так как концентрация биологических жидкостей и токсичных компонентов не превышает ПДК в сточных водах.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 500 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 490-540 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 900 g;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие дозировать объемы жидкости 0,01 мл; 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

Монореагент и калибратор готов к использованию.

Процедура анализа образцов сыворотки, плазмы крови и мочи

Компоненты реакционной среды внести в пробирки в последовательности, указанной в таблице 1.

Таблица 1

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент, мл	2,0	2,0	2,0
Сыворотка или плазма или моча, мл	0,01	-	-
Калибратор, мл	-	0,01	-
Вода дистиллированная, мл	-	-	0,01

Реакционную смесь тщательно перемешать и выдержать в течение 20 минут при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 500 (490-540) нм при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) 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. Объемы исследуемого образца и монореагента можно изменить, соблюдая соотношение 1:200.

Подготовка исследуемых образцов крови к анализу

Необходимое количество крови для исследования необходимо сразу после забора внести в пробирку с хлорной кислотой и тщательно перемешать, таблица 2.

Таблица 2

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

Пробы тщательно перемешать и выдержать в течение 10 минут при комнатной температуре, после чего опытные пробы центрифугировать с ускорением 900 g в течение 10 минут при комнатной температуре. Для дальнейшего анализа использовать прозрачную надосадочную жидкость.

Надосадочная жидкость опытной пробы стабильна не менее 5 дней в герметично закупоренном флаконе при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$.

Проведение анализа

Компоненты реакционной среды внести в пробирки в последовательности, указанной в таблице 3.

Таблица 3

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Монореагент, 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 500 (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 и моче (С, ммоль/л) рассчитать по формуле:

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

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

$E_{кал}$ - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плот.;

10 - концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

Условия хранения и эксплуатации набора

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

Срок годности набора - 18 месяцев.

Монореагент должен храниться при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света месте.

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

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

По вопросам, касающимся качества набора «ГЛЮКОЗА-8-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

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

Тел: (812) 412-84-46, (812) 412-83-02;

Факс: (812) 412-84-29

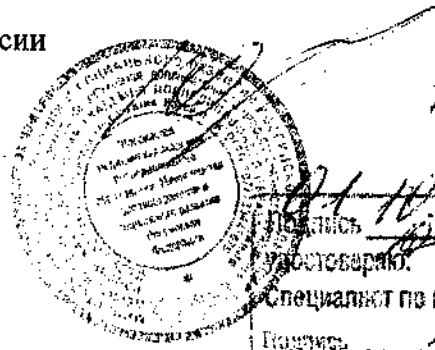
Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум»

Юцин К.В.

«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГБОУ ДПО
РМАПО Минздравсоцразвития России
д.м.н., профессор



Долгов В.В.

2012
Специалист по калибру РМАПО
2012

Пронумеровано и прошнуровано
в количестве 7 (семь)

Генеральный директор

