

КОПИЯ ВЕРНА

[Handwritten signature]

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения и
социального обеспечения



[Handwritten signature]
15 " *[Handwritten date]* 2004 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
концентрации этанола в крови
(ЭТАНОЛ-ОЛЬВЕКС)

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по лабораторным
реагентам. (протокол № 5 от 28 июня 2004 г.)

Назначение

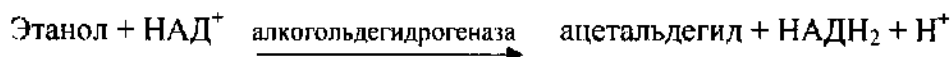
Набор ЭТАНОЛ-ОЛЬВЕКС предназначен для определения количественного содержания этанола в крови человека в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 25 или 50 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Инструкция составлена директором по науке ООО «Ольвекс Диагностикум», к.б.н.
З.А.Тупиковой и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМА-
ПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Принцип метода

Метод определения основан на оптическом методе Варбурга. В присутствии алкоголь-дегидрогеназы этанол превращается в ацетальдегид с одновременным образованием НАДН₂ из НАД⁺. Количество образовавшегося НАДН₂ пропорционально концентрации этанола в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.



Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буферный раствор), pH 8,8, содержащий трис-(гидроксиметил)аминометан, 600 ммоль/л; азид натрия, 1,0 г/л; готов к применению - 1 флакон (50 мл) или 2 флакона (по 50 мл);
- реагент 2 (лиофилизат), содержащий алкогольдегидрогеназу, 24000 Е/л; никотинамидадениндинуклеотид (НАД), 3,6 ммоль/л – 1 или 2 флакона;
- реагент 3 (хлорная кислота), содержащий хлорную кислоту 0,33 N; готов к применению - 1 флакон (20 мл) или 1 флакон (40 мл);
- калибратор, содержащий этанол, 1,0 г/л; азид натрия, 1,0 г/л; готов к применению 1 флакон (1,0 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения концентрации этанола - в диапазоне от 0,5 до 5,0 г/л, отклонение от "линейности" - не более 5%.

Чувствительность определения - не более 0,2 г/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Анализируемые образцы

Цельная кровь человека.

Внимание ! Правила забора и хранения крови для исследования на этанол определяются нормативными документами МЗ РФ.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входит азид натрия и хлорная кислота. При работе с набором следует не допускать 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 вирусной инфекции.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 3000 об/мин (900 g);
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05 мл; 0,1 мл; 1,0 мл и 2,0 мл;
- пробирки с крышками вместимостью 5,0-10 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Подготовка к анализу

Приготовление рабочего реагента

Содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в одном флаконе с реагентом 1. Рабочий реагент готов к применению не ранее, чем через 20 минут после начала растворения при комнатной температуре (+18-25°C).

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C не более 24 часов.

Подготовка анализируемых образцов к анализу

Внимание. Все процедуры анализа следует проводить в герметично закрытых пробирках.

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Контрольная (холостая) проба
Реагент 3, мл	1,0	1,0
Цельная кровь, мл	0,1	-
Вода дистиллированная, мл	-	0,1

Пробы тщательно перемешать и выдержать в течение 10 минут при комнатной температуре, после чего пробы центрифугировать при 3000 об/мин (900 g) в течение 10 минут при комнатной температуре. Для дальнейшего анализа использовать прозрачную надосадочную жидкость (супернатант).

Супернатант анализируемого образца можно хранить в герметично закупоренном флаконе при температуре +2-8°C не более 10 суток.

Проведение анализа

Компоненты реакционной смеси отобрать в герметично закрывающиеся пробирки в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент, мл	2,0	2,0	2,0
Супернатант контрольной (холостой) пробы, мл	-	-	0,05
Супернатант опытной пробы, мл	0,05	-	-
Калибратор, мл	-	0,05	-

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

Расчеты

Концентрацию этанола в крови (С, г/л) рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{np}}{E_{kalt}} \times 1,0,$$

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

E_{kalt} - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

1,0 – концентрация этанола в калибраторе, г/л.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2 - 25°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 12 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 24 часов.

Супернатант анализируемого образца можно хранить в герметично закупоренном флаконе при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 10 суток.

Реагент 1 и калибратор после вскрытия флакона можно хранить в герметично закупоренном флаконе при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 6 месяцев.

Реагент 3 после вскрытия флакона можно хранить в герметично закупоренном флаконе при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 12 месяцев, но не более срока годности набора.

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

Недопустимо при заборе крови применять дезинфекцию с использованием этилового спирта.

В лабораторном помещении, где проводится анализ, недопустимо нахождение приборов и реагентов, которые могут быть источниками паров спиртов и альдегидов.

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

По вопросам, касающимся качества набора ЭТАНОЛ-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 государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» ФС НЗСР по адресу:

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

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум»

к.б.н.

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

З.А.Тупикова

А.В.Козлов