

Реагенты, цельная кровь	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл	Контрольная (холостая) проба, мл
Рабочий реагент	2,00	2,00	2,00
Надосадочная жидкость	0,25	-	-
Калибратор	-	0,025	-
Вода дистиллированная	-	-	0,25

Далее провести определение так, как это указано выше.

РАСЧЕТЫ

Расчет концентрации глюкозы в анализируемых пробах провести по формуле:

$$C = \frac{E_o}{E_k} \times 10,$$

где: C – концентрация глюкозы, ммоль/л;
 E_o – оптическая плотность опытной пробы, ед.опт.плотн.;
 E_k – оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;
 10 – концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение набора должно проводиться в упаковке предприятия-изготовителя 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. Срок хранения набора 12 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2–8° С в посуде из темного стекла не более 5 дней при условии достаточной герметизации.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2–8° С в темном месте не более 30 суток.

Раствор антикоагулянта можно хранить при температуре +2–8° С не более 1 месяца.

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

По вопросам, касающимся качества набора ФОТОГЛЮКОЗА, следует обращаться ООО «ИМПАКТ» по адресу: 127018, Москва, ул. Двинцев, 6; телефон/факс: (495) 113-23-10, e-mail: impact@orc.ru.



105173, Москва, ул. Западная,
 д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед».
 Тел.: (495) 777-41-92.
 Факс: (495) 741-25-19.
 www.agat.ru agat@agat.ru

ФОТОГЛЮКОЗА

Утверждаю
 Зам. руководителя Департамента государственного контроля
 качества, эффективности и безопасности лекарственных
 средств и медицинской техники МЗ РФ
 Д.В. Рейхарт
 15 мая 2001 г.

Рекомендована к утверждению
 экспертной комиссией по лабораторным реагентам
 Комитета по новой медицинской технике Минздрава России
 (протокол № 3 от 26 марта 2001 г.)

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения глюкозы глюкооксидазным методом

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения глюкозы в сыворотке, плазме и цельной крови человека глюкооксидазным методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на 1 анализ или 200 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на 1 анализ и пригоден для различных вариантов микроанализа.

ПРИНЦИП МЕТОДА

При окислении b-D-глюкозы кислородом воздуха при каталитическом действии глюкооксидазы (ГО) образуется эквивалентное количество перекиси водорода. Под действием пероксидазы (ПО) перекись водорода окисляет 4-аминоантипирин (4-ААП) в присутствии фенольных соединений в окрашенное соединение, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации глюкозы в анализируемом образце и измеряется фотометрически при длине волны 500 (490–540) нм.

СОСТАВ НАБОРА

Буфер-субстрат: калиевые или аммониевые соли фосфорной кислоты (0,1 ммоль/л), 4-АПП (50 ммоль/л), 8-охинолин (0,75 ммоль/л) – 2 таблетки.
Ферменты: ГО (2500 ед.), ПО (500 ед.) – 1 таблетка.

Калибратор: калибровочный раствор глюкозы, 10 ммоль/л в 0,15% бензойной кислоты – 1 флакон (5,0 мл).

Антикоагулянт: натрий хлористый (9 г/л), натрий оксалат (0,02 ммоль/л) – 2 таблетки.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

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

Буфер-субстрат содержит токсичные компоненты. При работе с ним 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, противоэпидемиологического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.)

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови 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° С. 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° С). Надосадочную жидкость использовать для анализа.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр, длина волны 500 (490–540) нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- автоматические и полуавтоматические биохимические анализаторы;

- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,025–2,0 мл;
- центрифуга;
- секундомер;
- колбы мерные вместимостью 100 или 200 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру +37±1° С;
- вода дистиллированная.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента: 2 таблетки Буфер-субстрата поместить в мерную колбу вместимостью 200 мл, добавить 150 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать до полного растворения таблеток; таблетку «Ферменты» растворить в 5,0 мл дистиллированной воды, количественно перенести в колбу с раствором буферно-субстратной смеси, довести дистиллированной водой до метки и тщательно перемешать. Перенести рабочий реагент в посуду из темного стекла.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре (+2–8° С) в посуде из темного стекла не более 5 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	2,00	2,00	2,00
Сыворотка (плазма) крови	0,025	-	-
Калибратор	-	0,025	-
Вода дистиллированная	-	-	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° С) или в течение 15 мин при температуре +37° С.

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 (490–540) 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: