

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЕМОГЛОБИНА A_{1C}



HC – HbA_{1C} DIRECT

ВВЕДЕНИЕ

Определение содержания HbA_{1c} используется при долговременном мониторинге больных диабетом. Уровень HbA_{1c} в крови человека пропорционален содержанию глюкозы, и потому широко используется в качестве индикатора усредненной по времени (4-8 недель) концентрации глюкозы в крови. Гемоглобин (HbA_{1c}) является продуктом реакции глюкозы с N-концевыми группами β-цепей глобина.

Этот неферментативный процесс отражает усредненное воздействие глюкозы на гемоглобин за длительный период. В классическом исследовании Trivelli и др. [1] показано, что гемоглобин A_{1C} у диабетиков повышен в 2-3 раза по сравнению с уровнем у здоровых людей. Некоторые исследователи отмечают, что гемоглобин A_{1C} может служить показателем контроля метаболизма при диабете, поскольку уровень гемоглобина A_{1C} у диабетиков приближается к нормальным величинам при регуляции обмена веществ. [2,3,4].

Гемоглобин A_{1c} операционно был определен как «быстрая фракция» гемоглобинов (HbA_{1a}, A_{1b}, A_{1c}), которая первой элюируется при колоночной хроматографии с катионообменной смолы. Негликозилированный гемоглобин, который составляет основную часть гемоглобина, обозначается HbA₀.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения гемоглобина A_{1C} в соответствии с стандартизированным методом сертифицированным Национальной Программой По Стандартизации Исследований Гликогемоглобина (NGSP).

Данный метод использует взаимодействие антигена и антитела для прямого определения концентрации HbA_{1C} в цельной крови. Общий гемоглобин и HbA_{1C} имеют одинаковые неспецифические скорости абсорбции на латексных частицах. При добавлении мышинных моноклональных антител к человеческому HbA_{1C}, образуется комплекс латекс-HbA_{1C}-мышинные антитела к HbA_{1C} человека. Когда козы поликлональные антитела IgG взаимодействуют с моноклональными антителами мыши, происходит агглютинация. Количественно агглютинация пропорциональна количеству HbA_{1C} абсорбированному на поверхности латексных частиц.

Количественно агглютинация измеряется как абсорбция. Значение HbA_{1C} получается по калибровочной кривой.

РЕАГЕНТЫ

Состав набора

REAGENT 1	1 x 79,5 мл
REAGENT 2a	1 x 30,4 мл
REAGENT 2b	1 x 1,6 мл
HEMOLYSING REAGENT	2 x 75 мл

При температуре 2-8°C, реагенты сохраняют стабильность в течение всего срока годности, указанного на упаковке. На борту анализатора, при 2-10°C реагенты стабильны до 30 суток. Защищать от света и избегать загрязнения!

Концентрации компонентов в реагентах

латекс	0,13%
глициновый буфер	80 ммоль/л
моноклональные антитела мыши к HbA _{1C} человека	0,05 мг/мл
козы анти-мышинные поликлональные IgG антитела	0,08 мг/дл
стабилизаторы	

Предостережения и примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Реагенты должны использоваться только для целей, для которых они предназначены, квалифицированным лабораторным персоналом, в соответствующих лабораторных условиях.
- Сообщалось, что результаты могут быть ложными у пациентов при следующих условиях: прием опиатов, отравление свинцом, алкоголизм, прием больших доз аспирина [6, 7, 8, 9].
- Сообщалось, что повышенные уровни HbF могут приводить к недооценке HbA_{1C} и, что уремия не влияет на иммунологическое определение HbA_{1C} [10].
- Это исследование не следует использовать для диагностики диабета, а только в целях мониторинга пациентов с установленным диабетом.
- При использовании гемоглобина A_{1C} для мониторинга пациентов с диабетом результаты должны интерпретироваться индивидуально.
- Реагент HEMOLYSING REAGENT (Кат.№ 4-398) может быть заказан отдельно.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Венозная кровь на ЭДТА.

Гемоглобин A_{1C} в цельной крови, отобранной на ЭДТА, стабилен до 7 суток при 2-8°C.

Предварительная обработка проб:

- Диспенсируйте 500 мкл HEMOLYSING REAGENT в пробирки, помеченные: Контроль, Пациенты, и т.д.
- Поместите 10 мкл хорошо перемешанной крови в предварительно помеченные пробирки с лизирующим реагентом. Перемешайте и оставьте на 5 минут или до очевидного полного лизиса.
- Обработанные пробы могут храниться до 10 суток при 2-8°C.
- Примечание: Калибраторы и контроли также следует гемолизировать, как и пробы.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

REAGENT 1 готов к использованию.

Перелейте содержимое флакона REAGENT 2b в REAGENT 2a, осторожно перемешайте и поставьте в анализатор.

Набор предназначен для использования в автоматическом анализаторе Hitachi 911/912.

Адаптацию анализатора следует ввести, используя ручной сканер штрих-кодов и вложенный лист со штрих-кодами, в соответствии с настоящей инструкцией.

- Удалите предыдущую версию адаптации для ПО анализатора, а также привязанные к ней калибраторы и перезагрузите аппарат.
- Введите коды калибраторов в соответствии со списком (поставляется в составе набора реагентов).
- Считайте штрих-кодovou адаптацию, а также задайте соответствующие значения для калибраторов.
- Для активации считанной адаптации, следует перейти к вкладке UTILITY | APPLICATION | RANGE и изменить значение поля DATA MODE с INACTIVE на ON BOARD. Утвердить изменения нажатием кнопки UPDATE.
- Установить реагенты на борт анализатора – они будут автоматически приписаны к соответствующим тестам. Также следует произвести измерение объема реагентов во флаконах.
- По калибрации, анализатор готов к использованию.

Результат рассчитанный автоматически выражается в единицах % согласно стандартизации NGSP.

Для пересчёта результата на значения выраженные в единицах SI ммоль/моль согласно стандартизации IFCC необходимо воспользоваться данным уравнением:

$$\text{HbA1c [ммоль/моль IFCC]} = (\text{HbA1c [\% NGSP]} - 2,15) \times 10,929$$

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ ¹²

4 – 6 % (20 – 42 ммоль/моль)

Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормы, характерные для обследуемого контингента.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется использовать CORMAY HbA_{1C} DIRECT CONTROLS (Кат.№ 4-328) для каждой серии измерений.

Для калибровки автоматических анализаторов рекомендуется CORMAY HbA_{1C} DIRECT CALIBRATORS (Кат.№ 4-308). Калибровку следует производить с использованием калибраторов, а также 0,9% NaCl.

Контроли и калибраторы следует обработать реагентом HEMOLYSING REAGENT.

Калибровочную кривую следует составлять каждые 7 дней, при каждой смене лота реагента или при необходимости, напр., если результаты контроля качества не попадают в референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Эти метрологические характеристики были получены с использованием автоматических анализаторов Hitachi 912 и Hitachi 717. Результаты, полученные на других анализаторах, могут отличаться.

- **Аналитический диапазон:** 2 – 16% (до 151 ммоль/моль).
- **Специфичность / Интерференции**
Билирубин до 50 мг/дл, триглицериды до 2000 мг/дл, аскорбат до 50 мг/дл, карбаминогемоглобин до 7,5 ммоль/л, ацетилированный гемоглобин до 5,0 ммоль/л не влияют на результаты определений.

- **Точность (% HbA_{1C})**

Повторяемость (между сериями) n = 20	Среднее [%]	SD [%]	CV [%]
уровень 1	5,93	0,12	2,02
уровень 2	12,43	0,06	0,51

Воспроизводимость (изо дня в день) n = 20	Среднее [%]	SD [%]	CV [%]
уровень 1	4,72	0,06	1,30
уровень 2	7,36	0,08	1,12
уровень 3	11,0	0,17	1,51

- **Сравнение метода**

Сравнение результатов измерения HbA_{1c} произведенных на Hitachi 912 (y) и на Cobas Integra 400 (x) с использованием 27 образцов дало следующие результаты:

$$y = 0,896 x + 0,818$$

$$R = 0,9792 \quad (R - \text{коэффициент вариации})$$

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с локальными требованиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284,353 (1971).
2. Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
3. Gabbay, K.H., Hasty, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
4. Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 16 (Jan. 1978).
5. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 794-795 (1999).
6. Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, 379 (1982).
7. Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32, 358-360 (1986).
8. Fluckiger, R., et al, New Eng. J. Med. 304, 823-827 (1981).
9. Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, 466-469 (1983).
10. Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, 93-97 (1989).
11. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).
12. Alan H. B. Wu, Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Company, 4th edition, 482 (2006).

Дата создания: 09. 2012.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

PZ CORMAY S.A.

Ул. Вёсэна 22,
05-092 Ломянки, ПОЛЬША
тел.: +48 (0) 22 751 79 10
Факс: +48 (0) 22 751 79 14
<http://www.cormay.pl>

09/12/09/12