HbA1c

Набор Гемоглобин A1c (метод ферментативного химического анализа)

Информация для оформления заказа

№ по кат.	Размер упаковки
HBA0202	R1 2×30 мл+R2 1×12 мл Раствор для предварительной обработки 1×150 мл
HBA0203	R1 2×40 мл + R2 1×15 мл Раствор для предварительной обработки 1×200 мл
HBA0204	R1 4×40 мл + R2 2×15 мл Раствор для предварительной обработки 2×150 мл
HBA0302	R1 2×30 мл+R2 1×12 мл+калибратор 2×1 мл Раствор для предварительной обработки 1×150 mL
HBA0303	R1 2×40 мл+R2 1×15 мл +калибратор 2×1 мл Раствор для предварительной обработки 1×200 мл
HBA0304	R1 4×40 мл+R2 2×15 мл + калибратор 2×1 мл Раствор для предварительной обработки 2×150 мл
HBA0102	R1 2×30 мл+R2 1×12 мл+калибратор 2×1 мл+контроль качества 2×1 мл Раствор для предварительной обработки 1×150 мл
HBA0103	R1 2×40 мл+R2 1×15 мл + калибратор 2×1 мл + контроль качества 2×1 мл Раствор для предварительной обработки 1×200 мл
HBA0104	R1 4×40 мл+R2 2×15 мл + калибратор 2×1 мл + контроль качества 2×1 мл Раствор для предварительной обработки 2×150 мл

Назначение

Тест для количественного определения in vitro концентрации HbA1c в человеческой цельной крови методом фотометрии .

Краткая справка [1-3]

Гемоглобин (Hb) состоит из четырех белковых цепей и четырех гемов и является окрашивающим в красный цвет белком, входящим в состав эритроцитов. Его основная функция — транспортировка кислорода и двуокиси углерода в крови. Каждая молекула Hb способна связать четыре молекулы кислорода. Hb состоит из разнообразных субфракций и дериватов. В эту гетерогенную группу гемоглобинов входят гемоглобины HbA1c, представляющие гликозилированные гемоглобины — субфракцию, сформированную путем прикрепления различных сахаров в молекуле Hb. HbA1c образуется в два этапа в результате неферментативной реакции глюкозы с N-концевой аминогруппой β-цепи нормального зрелого Hb (HbA). Этот первый этап обратимый и дает неустойчивый HbA1c. Он медленно трансформируется во второй этап, в результате которого получается устойчивый HbA1c. В эритроцитах относительное количество HbA, преобразуемого в устойчивый HbA1c, возрастает с увеличением средней концентрации глюкозы в крови. Преобразование в устойчивый HbA1c ограничивается сроком жизни эритроцитов — приблизительно 100—120 суток. В результате HbA1c отражает средний уровень глюкозы в крови за предшествующие 2—3 месяца. Следовательно, HbA1c подходит для мониторинга долгосрочного контроля глюкозы в крови людей, страдающих сахарным диабетом. Чем свежее уровни глюкозы, тем больше их влияние на уровень HbA1c. Приблизительная взаимосвязь между HbA1c средним значением глюкозы в крови за предшествующие 2—3 месяца была проанализирована в ряде исследований.

Метод

Метод ферментативного химического анализа

Принцип реакции

В первой реакции измеряется концентрация гемоглобина на основе поглощающей способности света фиксированной длины волны, и, одновременно, формируются дипептиды фруктозила в результате реакции протеазы из N-концевых аминогрупп бета-цепи HbA1c. Во второй реакции — фруктозил-пептид-оксидазы (FPOX) с дипептидами фруктозила — образуется натриевая соль фенотиазина 10-(карбоксиметиламинокарбонил)-3,7-бис(диметиламино), дающая цветовую реакцию при наличии пероксидазы. Для определения HbA1c измеряется изменение поглощающей способности. Совокупные результаты химического анализа гемоглобина и HbA1c используются системой для расчета и выражения HbA1c(%).

Реагенты

Компоненты и концентрация

R1：	Трис-буфер	2,7 ммоль/л
R2：	Пероксидаза	1500 Ед/л
	Фруктозил-пептид-оксидаза	1500 Ед/л
Раствор для предварительной обработки	Гемолизин	5 г/л
Калибратор	Концентрацию см. на этикетке	
Контроль качества	Концентрацию см. на этикетке	

Предупреждения и меры предосторожности

1. Только для диагностики in vitro.
2. При работе с лабораторными реагентами соблюдайте необходимые меры предосторожности.
3. Содержит консервант. Запрещается проглатывать. Избегайте контакта с кожей и слизистой оболочкой.
4. От всех отходов избавляйтесь в соответствии с местными нормативами.
5. Паспорт безопасности материала предоставляется пользователям по запросу.
6. В диагностических целях значения %HbA1c следует использовать вместе с данными других диагностических процедур и клиническими оценками.
7. Данный тест предназначен только для достоверного и точного измерения %HbA1c. Отдельные результаты по концентрации общего Hb и HbA1c не следует включать в отчет.
8. Тест не предназначен для диагностики сахарного диабета или оценки повседневного контроля глюкозы, и не может заменить ежедневного тестирования глюкозы в моче или крови в домашних условиях.
9. Весь человеческий материал следует считать потенциально инфекционным.
10. Реагент необходимо использовать вместе с калибратором с тем же номером партии.

Приготовление реагента

Реагенты R1 и R2 готовы к использованию.

Приготовление калибратора

Осторожно откройте флакон, чтобы не потерять лиофилизат, и пипеткой введите точно 1,0 мл дистиллированной или деионизированной воды. Аккуратно закройте флакон и полностью растворите содержимое, в течение 30 минут время от времени взбалтывая кругообразными движениями. Не допускайте образования пены. Растворенный калибратор можно использовать без всякого дальнейшего приготовления.

Приготовление контроля качества

Осторожно откройте флакон, чтобы не потерять лиофилизат, и пипеткой введите точно 1,0 мл дистиллированной или деионизированной воды. Аккуратно закройте флакон и полностью растворите содержимое, в течение 30 минут время от времени взбалтывая кругообразными движениями. Не допускайте образования пены. Растворенный контроль можно использовать без всякого дальнейшего приготовления.

Хранение и устойчивость

В случае хранения в защищенном от света месте при температуре 2-8℃ в нераспечатанных флаконах сохраняют устойчивое состояние до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Открытый реагент остаётся стабильным в течение 28 дней, если хранится в анализаторе или в холодильнике.

Необходимо защищать реагенты от загрязнения.

Запрещается замораживать реагенты.

Растворенные калибратор и контроль остаются устойчивым в течение 15 суток при температуре 2—8 °C. Не замораживать.

Поглощающая способность холостого реагента

Поглощающая способность холостого реагента Hb при 500 нм должна быть <0,8 A.

Поглощающая способность холостого реагента HbA1c при 660 нм должна быть <0,5 A.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

1. Раствор 9 г/л NaCl.
2. Обычное лабораторное оборудование.

Взятие и приготовление пробы

1. Испытаны и признаны пригодными только следующие образцы.
2. В качестве проб пригодна ЭДТА-、NaF-ЭДТА или гепаринизированная кровь.
3. Используйте подходящие пробирки или контейнеры для сбора проб и соблюдайте инструкции изготовителя, чтобы исключить влияние материалов пробирок или контейнеров для сбора проб.

Процедура приготовления цельной крови

1. Перед тестированием цельную кровь следует в течение 5 минут обработать в центрифуге со скоростью вращения 2000 об/мин.
2. Отберите 25 мкл форменных элементов крови из осадка форменных элементов крови в чашку для пробы или микроцентрифужную пробирку Эппендорфа.

3. Добавьте 500 мкл приготовленного раствора в чашку для пробы или микроцентрифужную пробирку Эппендорфа.
4. Закройте тестовую пробирку и, энергично встряхивая ее, лизируйте кровь. Затем перемешайте раствор, либо легкими кругообразными движениями, либо с помощью вибрационного смесителя.
5. Спустя 5 минут, гемолизат можно использовать в качестве рабочих проб.
6. Устойчивость цельной крови:3 суток при 15-25 °C,7 суток при 2-8 °C
   Устойчивость гемолизата:8 часов при 15-25 °C,24 часа при 2–8 °C

Порядок выполнения химического анализа

1. Hb

	Холостая проба	Проба
Реагент 1	180 мкл	180 мкл
Дист. вода	12 мкл	—
Проба	—	12 мкл
Смешайте, инкубируйте в течение 5 мин. при 37 °C и снимите показания поглощающей способности холостой пробы A		
ΔA = [ΔA пробы]- [ΔA холостой пробы]		

2. HbA1c

	Холостая проба	Проба
Реагент 1	180 мкл	180 мкл
Дист. вода	12 мкл	—
Проба	—	12 мкл
Смешайте, инкубируйте в течение 5 мин. при 37 °C, снимите показания поглощающей способности холостой пробы и затем добавьте:		
Реагент 2	60 мкл	60 мкл
Тщательно перемешайте при 37 °C, и, спустя 5 минут, еще раз снимите показания поглощающей способности.		
ΔA = [ΔA пробы]- [ΔA холостой пробы]		

Калибровка

1. Для двухточечной калибровки рекомендуется использовать калибратор, входящий в наборы
2. Отслеживаемость калибратора: данный метод стандартизован согласно стандарту JCCLS CRM-004a.
3. Частота калибровки:
   После замены партии реагентов.
   По мере надобности соблюдайте процедуры контроля качества.

Контроль качества

Для каждой партии проб следует проанализировать не менее двух уровней контрольного материала. Кроме того, эти контроли следует обрабатывать для каждой новой калибровки, каждого нового картриджа с реагентами и после определенного технического обслуживания или устранения неполадок, о чем подробно написано в руководствах соответствующих систем.

Для оценки эффективности процедуры измерения рекомендуется использовать контроль из наборов. Кроме того, можно использовать другие подходящие контрольные материалы.

В каждой лаборатории следует принять собственную схему контроля качества и процедуры внесения поправок на то случай, если контроли не восстанавливаются в допустимых пределах.

Вычисления

Анализатор автоматический рассчитывает концентрацию HbA1c каждой пробы после выполнения калибровки.

Протокол 1 согласно IFCC: HbA1c(%)= HbA1c(мкмоль/л)/Hb(мкмоль/л)×100

Протокол 2 согласно NGSP/DCCT: HbA1c(%)=
91,5×HbA1c(мкмоль/л)/Hb(мкмоль/л)+ 2,15

Протокол 3 согласно JCCLS: HbA1c(%)=
96,3×HbA1c(мкмоль/л)/Hb(мкмоль)+ 1,62

Референтные интервалы [4]

В каждой лаборатории следует принять собственные референтные интервалы с учетом группы больных. Приведенные ниже референтные интервалы, измеренные при 37 °C, взяты из литературы:

Тип пробы		Единицы СИ
Цельная кровь	Согласно IFCC	2,9—4,2 %
	Согласно NGSP/DCCT	4,8—5,9 %
	Согласно JCCLS	4,3—5,8 %

Эксплуатационные характеристики

Ниже представлены репрезентативные рабочие характеристики, полученные с помощью системы Mindray (анализаторы Mindray серии BS/реагент HbA1c Mindray). Результаты могут меняться, если используются другие приборы, отдельная лаборатория или ручной анализ.

Ограничения - мешающие вещества

Проверено мешающее воздействие следующих веществ при использовании данной методологии. Критерий: восстановление в пределах ±10 % от начального значения.

Вещество	Тестируемый уровень	Наблюдаемый эффект
Аскорбиновая кислота	30 мг/дл	NSI*
Билирубин	50 мг/дл	NSI
Липемия	2000 мг/дл	NSI
Глюкоза	1000 мг/дл	NSI
*NSI: без существенного влияния (в пределах ±10 %)		

Диапазон линейности

Система Mindray обеспечивает следующие пределы анализа:

Тип пробы	Единицы СИ
Цельная кровь	3—16 %

Если этот показатель пробы превышает 16 %, ее следует разбавить приготовленным раствором (например, 1+ 1) и обработать заново.

Аналитическая чувствительность/предел обнаружения

Минимальная измеряемая концентрация Hb, которую можно отличить от нулевой, составляет 15 мкмоль/л с достоверностью 99,7 %.

Минимальная измеряемая концентрация HbA1c, которую можно отличить от нулевой, составляет 3 мкмоль/л с достоверностью 99,7 %.

Точность

Точность измерения в соответствии с рекомендациями руководства CLSI Approved Guideline EP5-A2 при химическом анализе контрольной сыворотки приведена в таблице ниже[5]. Ед.: %

Тип погрешности	Уровень 1			Уровень 2		
	Среднее значение	СО	КВ (%)	Среднее значение	СО	КВ (%)
В одном анализе	4,43	0,141	3,194	9,32	0,133	1,434
Между анализами		0,085	1,923		0,092	0,982
Между днями		0,031	0,705		0,023	0,245
В устройстве		0,168	3,794		0,164	1,755

Сравнение методов

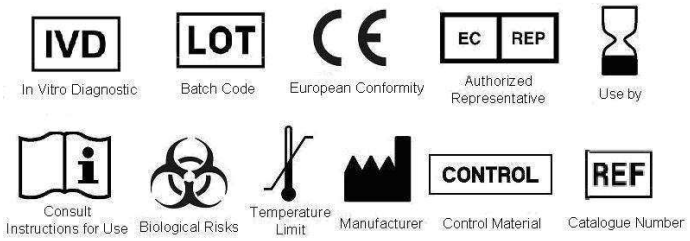
В результате сравнения системы Mindray (анализаторы Mindray серии BS/реагент HbA1c Mindray) (y) и системы Hitachi/SEKISUI (Hitachi/SEKISUI HbA1c) (x) на 40 пробах получена следующая корреляция (%): y = 0,9975x - 0,0455, r=0,9962

Подробные данные сравнительных экспериментов предоставляются по требованию.

Литература

1. Junge W, Wilke B, Halabi A et al. Determination of reference intervals in adults for hemoglobin A1c (HbA1c) (Определение референтных интервалов для гемоглобина A1c (HbA1c) у взрослых). Poster presentation 18th International Diabetes Federation Congress, Paris, 2003.
2. CLSI. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка характеристик точности методов количественного измерения); Approved Guideline-Second Edition. CLSI document EP5-A2 [ISBN 1-56238-542-9. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087 USA, 2008.

Графические обозначения



© 2011 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Все права защищены

Изготовитель: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.
Адрес:Mindray building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park,Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China
Адрес эл. почты: service@mindray.com.cn
Тел.:+86-755-26582888
Факс:+86-755-26582680
Представитель в ЕС: Shanghai International Holding Corp. GmbH(Europe)
Адрес: Eiffestraβe 80, Hamburg 20537, Germany
Тел.: 0049-40-2513175
Факс:0049-40-255726