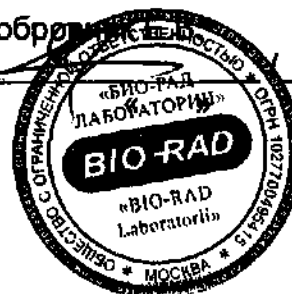


2

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Био-Рад Лаборатории»

Бобров



2009 г.

Инструкция по применению изделия медицинского назначения

**«Наборы реагентов и реагенты для
определения гликозилированного
гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на
анализаторе D-10».**

**Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина
A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10**

REF

220-0201 D-10™

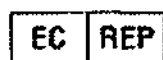
L20012103

**Набор реагентов для определения
гликозилированного гемоглобина A1C,
гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10**

**Инструкция по применению изделия медицинского
назначения**



Био-Рад Лабораториз, Инк. Hercules, California, 94547, СОЕДИНЕННЫЕ ШТАТЫ



Био-Рад, Marnes-la-Coquette, ФРАНЦИЯ

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

Компакт-диск с информацией на многих языках

Это руководство включает в себя CD-ROM с информацией на английском, немецком, французском, испанском, итальянском, португальском, шведском, датском и греческом языках.

Символы, предусмотренные Директивой ЕС для применения в отношении средств диагностики *in vitro* (IVDD, 98/79/EC)

 Соответствует требованиям ЕС	 Производитель	 Уполномоченный представитель в Европейском Союзе
 Номер партии	 Использовать до:	 Для применения с целью диагностики <i>in vitro</i>
 Предельная температура	 Номер в каталоге	 Ознакомьтесь с инструкциями по применению

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

Символы, предусмотренные Директивой ЕС для применения в отношении средств диагностики in vitro (IVDD, 98/79/EC)

BUF 1 Буфер для элюции № 1	BUF 2 Буфер для элюции № 2	WSH DIL SOLN Раствор для промывки/разведения	ANLT CRTR Аналитический картридж
DISK Флоппи-диск	RESIN Смола	CAL DIL SET Набор калибраторов/разбавителя	CAL SET Набор калибраторов
CAL 1 Калибратор 1-го уровня	CAL 2 Калибратор 2-го уровня	CAL DIL Калибратор/разбавитель	RECON Восстановление с помощью:
WB PRM Затравка цельной крови	DI H₂O Деионизированная вода	SAMP ФЛАКОН Флаконы пробы	USE Для использования с:

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

СОДЕРЖАНИЕ

Страница

Назначение.....	2
Резюме и разъяснение теста.....	2
Принцип методики.....	2
Компоненты набора.....	3
Дополнительные компоненты, которые можно приобрести у компании Био-Рад.....	4
Необходимые дополнительные компоненты, которые не могут быть приобретены у компании Био-Рад.....	4
Меры предосторожности/предостережения.....	4
Взятие пробы и обращение с ней.....	5
Приготовление и хранение реактивов.....	5
Признаки нестабильности или ухудшения качества реактивов.....	6
Методика.....	7
Выбор метода.....	7
Установка комплекта повторного заказа новой партии (флоппи-диска обновления набора).....	7
Процедура подготовки аналитического картриджа.....	7
Калибровка для определения гликированного гемоглобина.....	7
Обычный прогон.....	8
Калибровка для определения гемоглобинов A2, F	
Сертификация/отслеживаемость до эталонного материала и метода.....	8
Требования контроля качества.....	8
Инструкции в отношении интерпретации результатов.....	9
Ограничения методики.....	9
Ожидаемый диапазон величин.....	10
Рабочие характеристики.....	11
Точность представления/воспроизведения.....	11
Степень приближения к истинной величине.....	11
Линейность/Извлечение.....	12
Вещества, создающие помехи.....	12
Лабильный гемоглобин A _{1c}	12
Липемические пробы.....	13
Желтуха.....	13
Гемоглобин F (HbF).....	14
Карбамилированный гемоглобин.....	14
Форма отчета об исследовании пробы.....	15
Информация о безопасности продукта.....	20
Информация о торговой марке.....	20
Список литературы.....	20

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c}, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

НАЗНАЧЕНИЕ

Наборы реагентов для определения гликированного гемоглобина D-10 компании Био-Рад предназначены для определения процента гемоглобина A_{1c} в цельной крови человека с помощью ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Наборы реагентов предназначены для использования в анализаторе для определения гликированного гемоглобина D-10 компании Био-Рад.

Наборы реагентов предназначены для использования с целью диагностики *in vitro*.

РЕЗЮМЕ И РАЗЪЯСНЕНИЕ ТЕСТА

Наборы реагентов для определения гликированного гемоглобина и гемоглобинов A2 и F рассчитаны на проведение 400 тестов при определении гемоглобина A_{1c} и 200 тестов при определении гемоглобинов A2 и F.

Время анализа при определении HbA_{1c} составляет 3 минуты и требует использования набора калибраторов для определения гликированного гемоглобина HbA_{1c}.

Время анализа при определении гемоглобинов A2 и F составляет 6 минут и требует использования набора калибраторов для определения гемоглобинов A2 и F.

Проведение данных исследований не требует замены рабочих буферов, аналитической колонки и промывки анализатора.

Сахарный диабет – это заболевание, характеризующееся наличием гипергликемии, связанной с неспособностью организма использовать глюкозу, присутствующую в крови, для выработки энергии. При сахарном диабете I типа прекращается выработка инсулина поджелудочной железой, в связи с чем глюкоза, присутствующая в крови, не может поступать в клетки для их последующего использования с целью получения энергии. При сахарном диабете II типа имеет место либо недостаточность выработки инсулина поджелудочной железой, либо неспособность организма правильно использовать инсулин.¹ Осложнения сахарного диабета, включая поражения глаз, почек, нервов и крупных кровеносных сосудов сердца, головного мозга и конечностей, характерны для обеих форм данного заболевания.² Сахарным диабетом поражены более 5 % населения земного шара.

Лечение сахарного диабета предусматривает длительное поддержание как можно более близкого соответствия уровня глюкозы в крови ее нормальному уровню с целью минимизации риска отдаленных сосудистых осложнений.^{3,4} Одинокое определение уровня глюкозы в крови натошак свидетельствует о состоянии пациента в период времени, непосредственно предшествующий данному определению (в предыдущие несколько часов), но не может охарактеризовать истинное состояние регуляции уровня глюкозы в крови.^{5,6} Точный показатель – среднюю концентрацию глюкозы в крови – можно определить путем измерения уровня гемоглобина A_{1c} (HbA_{1c}) через каждые 2-3 месяца.^{3,5,6}

Определяемый гликогемоглобин HbA_{1c} образуется в два этапа посредством неферментного гликирования HbA. Первый этап заключается в образовании нестабильного альдимины (лабильного гемоглобина A_{1c}, или пре-гемоглобина A_{1c}) – обратимой реакции между карбонильной группой глюкозы и N-концевым валином β-цепи гемоглобина. Образование лабильного гемоглобина A_{1c} прямо пропорционально концентрации глюкозы в крови. В циркулирующих эритроцитах некоторое количество лабильного гемоглобина A_{1c} преобразуется в стабильный кетоамин гемоглобин HbA_{1c}⁷ (“преобразование Амадори”).

Уровень HbA_{1c} пропорционален средней концентрации глюкозы и продолжительности циркуляции эритроцита. В связи с этим, определение уровня HbA_{1c} было принято в качестве средства регулярного клинического контроля состояния пациентов при сахарном диабете.⁷ Методы определения уровня HbA_{1c} включают в себя электрофорез, иммунные тесты и хроматографию.

Методика использования набора реагентов для определения гликированного гемоглобина A_{1c} D-10 основана на хроматографическом выделении HbA_{1c} в катионообменном картридже. Выделение HbA_{1c} оптимизировано таким образом, чтобы свести к минимуму помехи со стороны вариантов гемоглобина, лабильного гемоглобина A_{1c} и карбамилированного гемоглобина. Дополнительная информация представлена в разделах “Ограничения методики” и “Рабочие характеристики”. Кроме того, программа определения гемоглобина A_{1c} D-10 предусматривает автоматическое взятие пробы из пробирки с первичным образцом цельной крови с последующим разведением пробы; время анализа одной пробы составляет 3 минуты.

Повышение уровней определяемых гемоглобинов A2 и F является критерием диагностики талассемии. Кровь взрослого человека содержит гемоглобин A2, небольшой процент гемоглобина A2 и совсем незначительное количество гемоглобина F. Лица, страдающие В-талассемией имеют уровень гемоглобина A2 – от 4 до 9% и

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

гемоглобин F – от 1 до 5%. Данный набор реагентов предназначен для определения уровней гемоглобинов A2 и F.

ПРИНЦИП МЕТОДИКИ

Методика использования наборов реагентов для определения гликированного гемоглобина A_{1c} и гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10 основана на принципах ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Анализатор D-10 автоматически разводит пробу, после чего осуществляется инъекция пробы в аналитический картридж. Анализатор D-10 создает в картридже запрограммированный буферный градиент возрастающей концентрации ионов, благодаря которому осуществляется разделение гемоглобинов на основе их ионных взаимодействий с материалом картриджа. Затем разделенные гемоглобины проходят через проточную ячейку фильтрного фотометра, где осуществляются измерения изменений поглощения при длине волны 415 нм.

Программное обеспечение анализатора D-10 обеспечивает обработку первичных данных, получаемых при каждом анализе. Для количественного определения HbA_{1c} и гемоглобинов A2 и F используется двухуровневое калибрование. В связи с каждой пробой выдаются отчет о пробе и хроматограмма. Площадь определяемых гемоглобинов рассчитывается с помощью экспоненциально модифицированного гауссова (EMG) алгоритма, исключающего площади пиков лабильного гемоглобина A_{1c} и карбамилированного гемоглобина при определении площади пика гемоглобина A_{1c}.

Наборы реагентов для определения гликированного гемоглобина и гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10 предназначены для использования в анализаторе для определения гликированного гемоглобина D-10 Био-Рад.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

220-0201 Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F анализаторе D-10 («D-10 Dual Program Reorder Pack»)

Данный набор содержит принадлежности, рассчитанные на выполнение 400 тестов для гемоглобина A1c и 200 тестов для гемоглобинов A2 и F

REF

Описание

2200210 *Буфер D-10 Дуал для элюирования № 1. Две бутылки, содержащие 2000 мл Бис-Трис/фосфатного буфера, pH 6,0. Содержат < 0,05 % азида натрия в качестве консерванта.

2200211 * Буфер D-10 Дуал для элюирования № 2. Одна бутылка, содержащая 1000 мл Бис-Трис/фосфатного буфера, pH 6,7. Содержит < 0,05 % азида натрия в качестве консерванта.

2200112 *Раствор для промывки и разведения D-10. Одна бутылка, содержащая 1600 мл деионизированной воды. Содержит < 0,05 % азида натрия в качестве консерванта.

2200212 *Аналитическая колонка D-10 Дуал. Один катионообменный картридж размерами 4,0 (внутренний диаметр) x 30 мм.

2200215 *Дискета с программой содержит параметры программы определения гемоглобина A2 и гемоглобина F.

2200128 *Набор калибраторов D-10 Дуал. Один набор состоит из трех флаконов с калибратором 1-го уровня, трех флаконов с калибратором 2-го уровня и одной бутылки с разбавителем калибратора. Флаконы калибратора содержат лиофилизированный гемолизат эритроцитов человека с гентамицином, тобрамицином и ЭДТА в качестве консервантов. В каждом флаконе восстановленный объем равен 7 мл. Бутылка с разбавителем калибратора содержит 100 мл деионизированной воды и < 0,05 % азида натрия в качестве консерванта. Аннотация к набору калибраторов.

2200218 *Набор калибраторов D-10 Дуал для определения гемоглобинов A2, F, A1C. Один набор состоит из трех флаконов с калибратором 1-го уровня, трех флаконов с калибратором 2-го уровня и одной бутылки с разбавителем калибратора. Флаконы калибратора содержат лиофилизированный гемолизат эритроцитов человека с гентамицином, тобрамицином и ЭДТА в качестве

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

калибратора содержит 100 мЛ деионизированной воды и < 0,05 % азиды натрия в качестве консерванта. Аннотация к набору калибраторов.

- 2200148 *Праймер Четыре флакона лиофилизированного гемолизата эритроцитов человека с гентамицином, тобрамицином и ЭДТА в качестве консервантов. В каждом флаконе восстановленный объем равен 1,0 мЛ.
- 2200149 Микропробирки. 100 полипропиленовых пробирок объемом 1,5 мЛ с прокалываемыми крышками.
- 2200375 Термобумага один рулон.

ПРИМЕЧАНИЕ: Система D-10 рассчитывает уровни буферных растворов и отходов исходя из того, что объем тестов составляет не менее 200 в месяц и не менее 4 проб за один прогон. Пользователи с низким объемом тестов полностью расходуют буферные растворы и заполняют наружный резервуар для отходов еще до появления на дисплее соответствующих предупреждающих сообщений. Перед каждым прогоном проверяйте визуально уровни буферных растворов и уровень отходов в резервуаре для отходов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ, КОТОРЫЕ МОЖНО ПРИОБРЕСТИ У КОМПАНИИ БИО-РАД

	REF	Описание
220-0297		Адаптер флакона пробы, 10 x 1,5 мЛ
220-0375		Термографическая бумага D-10, 10 рулонов
740		Двухуровневый контроль сахарного диабета Липочек®, 6 x 0,5 мЛ
120		Линейный набор стандартов для определения гемоглобина A1c Липочек® (по одному для каждого из 4 уровней), 4 x 0,5 мЛ
530		Двухуровневый контроль Липочек®, 4 x 1,0 мЛ

НЕОБХОДИМЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ, КОТОРЫЕ НЕ МОГУТ БЫТЬ ПРИОБРЕТЕНЫ У КОМПАНИИ БИО-РАД

	Описание
Пипетки,	5 мкЛ, 0,5 мЛ, 1 мЛ, 7 мЛ
Деионизированная вода	
Одноразовые перчатки	

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ / ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Любые материалы человеческого происхождения следует считать инфицированными и обращаться с ними с использованием типичных процедур, обеспечивающих биологическую безопасность.
2. В местах выполнения операций с пробами пациентов и реактивами данного теста не следует курить, а также принимать пищу или напитки.
3. Не пользуйтесь пипеткой с помощью рта.
4. При выполнении операций с какими бы то ни было реактивами и пробами, а также при эксплуатации системы D-10, пользуйтесь средствами персональной защиты.
5. Удаляйте все отходы в соответствии с применимыми федеральными и/или местными правилами.
6. Некоторые реактивы содержат азид натрия, который может взаимодействовать с медной или свинцовой сантехникой с образованием взрывоопасных азидов металлов. При удалении этих реактивов следует проявлять осторожность. При удалении через канализацию следует проливать канализационную трубу большими объемами воды во избежание накопления азидов.
7. Удаляемые или обрабатываемые отходы, содержащие пробы пациентов или биологические продукты, следует считать биологически опасными.
8. Операции с химическими реактивами следует осуществлять в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики.
9. Дополнительная информация о безопасности и предостережения в отношении химических рисков представлены в разделе "Информация о безопасности продукта".

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

10. При расплескивании следует незамедлительно и тщательно удалять весь проливаемый материал. Дезинфицируйте места проливов биологически опасных материалов. Удаляйте все инфицированные материалы соответствующим образом.
11. Не используйте набор после истечения срока его годности. Срок годности указан на коробке с набором.
12. Не допускайте взаимной замены крышек и пробок флаконов или бутылок, так как это приводит к перекрестному загрязнению реактивов.
13. Каждая единица цельной крови, использованная при производстве калибраторов, и затравка цельной крови были испытаны с помощью методов, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA), и дали отрицательный результат в анализах на ВИЧ-1, ВИЧ-2, гепатит В (вирус гепатита В), гепатит С (вирус гепатита С) и сифилис. Однако, ни один метод анализа не может предоставить полной гарантии отсутствия этих или других инфекционных агентов в продуктах, содержащих исходный человеческий материал. В соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики, любой исходный человеческий материал следует считать потенциально зараженным любым инфекционным агентом; в связи с этим, с калибраторами и затравкой цельной крови следует обращаться с соблюдением тех же мер предосторожности, которые применяются в отношении образцов, получаемых от пациентов.
14. Для обеспечения адекватной работы данного продукта требуется соблюдение протокола, приведенного в этом документе.
15. Никогда не смешивайте содержимое разных бутылок, содержащих один и тот же реактив, так как это может привести к загрязнению реактива и нарушить работу продукта.
16. Пробки флаконов калибратора и затравки изготовлены из сухого натурального каучука.
17. Не используйте разбавитель калибратора для предварительного разведения проб пациентов.

ВЗЯТИЕ ПРОБЫ И ОБРАЩЕНИЕ С НЕЙ

Вид пробы

Цельная кровь, капиллярная кровь

Меры предосторожности при взятии пробы

Любые материалы человеческого происхождения следует считать инфицированными и обращаться с ними с использованием типичных процедур, обеспечивающих биологическую безопасность.

Добавки к пробе, консерванты

Пробы цельной крови следует собирать в вакуумные пробирки для сбора проб с ЭДТК.

Хранение проб

Пробы цельной крови можно хранить в течение периода до 7 дней при температуре 2-8 °С.

Подготовка пробы

1. Перед проведением анализа следует дождаться, пока температура пробирки с пробой не достигнет 15-30 °С (комнатной температуры). При комнатной температуре пробы стабильны в течение 3 дней. Какой-либо подготовки пробы не требуется. Смешивание не оказывает какого-либо влияния на получаемую величину HbA_{1c}, если вся площадь уместается в пределах диапазона измерений. Пробирки с пробой загружают в штатив для проб D-10 и помещают в систему D-10. Штриховые коды проб должны быть обращены к задней стенке прибора. Должны быть использованы специальные вкладыши в штативы для пробирок диаметром 12, 13 и 14 мм. Удалите все вкладыши для пробирок диаметром 16 мм. Для использования пригодны пробирки высотой 75-100 мм.
2. Если проба находится в пробирке неподходящего размера или типа, а также если количество пробы, присутствующее в пробирке, составляет менее 2,0 мЛ, то проба должна быть предварительно разбавлена. Для предварительного разбавления необходимо перенести пипеткой 1,5 мЛ раствора для промывки/разведения во флакон объемом 1,5 мЛ, снабженный этикеткой, а затем добавить в него 5 мкЛ пробы цельной крови. Закройте флакон с пробой крышкой и тщательно перемешайте. Используйте адаптер для флаконов с пробой, рассчитанный на флаконы объемом 1,5 мЛ.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

Транспортировка проб

Все пробы человеческого происхождения следует транспортировать в соответствии с национальными и международными правилами транспортировки.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Назначаемые величины и диапазоны указаны во вкладыше, прилагаемом к партии калибраторов и контролей.

Для обеспечения оптимальной работы программы, при переходе к использованию другой партии реактивов и/или картриджей необходимо устанавливать параметры, взятые из соответствующего флоппи-диска.

При установке или смене буферов, раствора для промывки/разведения и аналитической колонки следует соблюдать процедуры, описанные в 4-м разделе Руководства по эксплуатации D-10.

Рабочие буферы и раствор для промывки/разведения

1. Перед проведением анализа следует дождаться, пока температура буферов и раствора для промывки/разведения не достигнет 15-30 °C (комнатной температуры). Перед установкой каждой бутылки перемешивайте ее содержимое, плавно переворачивая вверх дном.
2. Буферы и раствор для промывки/разведения остаются стабильными до даты истечения срока годности при их хранении без вскрытия емкости при температуре 15-30 °C. После вскрытия бутылей эти реактивы сохраняют стабильность в течение 8 недель при их хранении при температуре 15-30 °C.
3. При использовании нового набора реагентов установите по одной бутылке каждого реактива и следуйте процедуре "Установка нового набора реагентов новой партии", описанной в разделе "Методика". После 200 инъекций устанавливайте новую бутылку Буфера № 1.
4. После установки Буфера № 1 заново устанавливайте уровень для данного реактива.
5. Допускается взаимная замена растворов для промывки/разведения между наборами реагентов разных партий.

Праймер

При установке новой аналитической колонки используйте свежие аликваты праймера.

1. Праймер остается стабильным до даты истечения срока годности при его хранении без вскрытия емкости при температуре 2-8 °C.
2. Приготовьте праймер путем добавления во флакон 1 мЛ деионизированной воды.
3. Осторожно воспользовавшись мешалкой, добейтесь растворения и полного перемешивания.
4. Дайте отстояться в течение 10-15 минут при 15-30 °C.
5. Укажите на этикетке дату восстановления. Восстановленный праймер стабилен в течение одного дня при его хранении при температуре 2-8 °C.
6. Допускается использование праймеров разных партий.

Калибраторы гемоглобина A1c

Восстановление и хранение калибраторов HbA_{1c} должно осуществляться в соответствии с инструкциями, содержащимися во Вкладыше к набору калибраторов/разбавителя.

Экстрагируемые стандарты

В данном методе ВЭЖХ экстрагируемые стандарты не используются.

Контроли

Восстановление и хранение контролей должно осуществляться в соответствии с инструкциями, содержащимися во вкладыше в упаковку изготовителя.

Контроли сахарного диабета Липочек компании Био-Рад перед анализом следует разбавлять в соотношении 1:300. С помощью пипетки перенесите 1,5 мЛ раствора для промывки/разведения во флакон объемом 1,5 мЛ с прикрепленной этикеткой, а затем добавьте 5 мкЛ восстановленного контроля.

Закройте каждый флакон с контролем крышечкой и тщательно перемешайте его содержимое.

ПРИЗНАКИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ИЛИ УХУДШЕНИЯ КАЧЕСТВА РЕАКТИВОВ

В случае замораживания реактивов при транспортировке, перемешивайте содержимое каждой бутылки перед ее установкой в прибор с помощью плавного переворачивания.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

Храните все реактивы при температуре, указанной на этикетке, и не используйте их после истечения срока годности.

Не используйте восстановленные материалы (калибратор, праймер) после истечения их срока годности.

Не используйте какие-либо реактивы, имеющие какие-либо признаки изменения цвета, помутнения или выпадения осадка.

Не используйте какие-либо реактивы, имеющие какие-либо признаки протекания из емкости.

Не используйте калибратор или праймер, если гранула имеет коричневый цвет или флакон поврежден. Если лиофилизированный материал содержит нерастворимое вещество, то этот материал следует выбросить и осуществить восстановление материала другого флакона.

ПРОЦЕДУРА

Выбор метода

С помощью LOT INFO на дисплее:

- Нажмите на "METHOD" на сенсорном экране.
- Выберите желаемый метод (HbA_{1c}).
- Нажмите на "EXIT".
- Нажмите на "YES", чтобы подтвердить изменение метода.
- Нажмите на "EXIT".
- Выбранный метод указан слева от строки состояния.

Если Вы не устанавливаете новую партию реактивов, то необходимость в промывании системы отсутствует.

Установка нового набора реагентов новой партии (флорпи-диска обновления набора)

- Перейдите к LOT INFO на дисплее.
- Нажмите на кнопку "UPDATE KIT" ("Обновление набора").
- Вставьте флорпи-диск обновления набора в A:\дискковод.
- Выполните представленные на экране инструкции по процедуре обновления набора.
- Извлеките флорпи-диск из A:\дискковод после выполнения процедуры.

Процедура подготовки аналитической колонки

- Перенесите пипеткой 1 мЛ восстановленного праймера во флакон с пробой. Поместите флакон с пробой в адаптер флакона с пробой, к которому прикреплена этикетка со штрих-кодом PRIME, затем поместите адаптер в положение № 1 штатива проб.
- Запустите прогон. После завершения прогона колонка готова к калиброванию.

Калибрование

Калибрование должно осуществляться один раз после установки и подготовки каждой новой аналитической колонки.

- Подготовьте пробы так, как описано в разделе "Подготовка пробы".
- Введите калибраторы и контроли в систему D-10. Используйте адаптеры флаконов с пробами для флаконов с калибраторами и контролями объемом 1,5 мЛ. Адаптеры должны иметь штрих-коды, идентифицирующие вид пробы.

Порядок проб с калибраторами:

№ пробы	Реактив	Адаптер
1	Калибратор HbA _{1c} , Уровень 1	CAL1
2	Калибратор HbA _{1c} , Уровень 2	CAL2
3	Контроль, Уровень 1	CTRL
4	Контроль, Уровень 2	CTRH
5 – 10	Пробы пациентов	

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c}, гемоглобинов A₂ и F на анализаторе D-10

ПРИМЕЧАНИЕ: Величины определяемого компонента, распечатываемые в калибрационных отчетах – это величины, назначенные калибраторам. В случае безуспешного калибрования, в отчетах указываются эти назначенные величины; однако, в конце калибрационного отчета присутствует запись: “Неудачная попытка калибрования”. Если НЕ ВЫБРАНА предупреждающая установка “Остановить в случае безуспешности калибрования” (см. раздел 2 Руководства по эксплуатации D-10), то прогон будет продолжаться с использованием калибровочных коэффициентов из предшествующего приемлемого прогона калибрования. В разделе 6 Руководства по эксплуатации D-10 представлены инструкции по поиску и устранению нарушений.

Обычный прогон

После процедуры калибрования аналитической колонки следует воспользоваться следующей конфигурацией прогона. Информация о частоте включения в прогон контрольных проб представлена в разделе “Требования контроля качества”.

Порядок проб без калибраторов:

№ пробы	Реактив
1	Контроль, Уровень 1
2	Контроль, Уровень 2
3 – 10	Пробы пациентов

Установка дополнительного набора реагентов

При установке реактивов из Дополнительного набора реагентов необходимо всегда использовать взаимосопоставляющие Буфер № 1 и Буфер № 2. Ни в коем случае не используйте бутылку с буфером из набора реагентов для определения гликированного гемоглобина: D-10, 400 (D-10 Reoder Pack, 400 Test)

в сочетании с буфером из Дополнительного набора реагентов.

- При установке новых бутылей пользователи должны переустанавливать счет инъекций буфера. (См. раздел 2, “LOT INFO на дисплее”, в Руководстве по эксплуатации D-10).
- В систему необходимо вручную вводить информацию о партии буфера и раствора для промывки/разведения, а также о сроках их годности.
- При установке второй бутылки Буфера № 1 следует переустанавливать счет инъекций Буфера № 1.

Сертификация/отслеживаемость до эталонного материала и метода

Программа определения гемоглобина A_{1c} D-10 сертифицирована NGSP (Национальной программой по стандартизации гликогемоглобина (США)) как имеющая документально подтвержденную отслеживаемость до эталонного метода DCCT (Исследования контроля и осложнений сахарного диабета). Целью NGSP является стандартизация результатов анализов на гликогемоглобин таким образом, чтобы результаты клинических лабораторных анализов были сравнимы с результатами, о которых сообщается в исследовании DCCT, в котором было установлено соотношение среднего уровня глюкозы в крови с риском сосудистых осложнений.⁸

Для назначения величин IFCC (Международной Федерации Клинической Химии) вторичным эталонным материалам используется одобренный эталонный метод IFCC. Эти вторичные материалы используются для назначения величин калибраторам продукта и определения параметров калибрования продукта посредством использования основного уравнения IFCC/NGSP.⁹

Основное уравнение:

$$(NGSP A_{1c}) = 0,9148 (IFCC A_{1c}) + 2,152$$

$$(IFCC A_{1c}) = 1,093 (NGSP A_{1c}) - 2,350$$

Величины NGSP стандартизированы по отношению к исследованию DCCT с помощью сети NGSP и, таким образом, могут быть отслежены до клинических исходов.

Для преобразования условных единиц (% от общего гемоглобина) в единицы СИ (доля от общего гемоглобина), процент гемоглобина A_{1c} умножают на 0,01.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c}, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

Требования контроля качества

В соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики, один раз в 24 часа в прогон следует включать диабетические и недиабетические контрольные пробы. В случае неполучения ожидаемых контрольных величин следует выполнить повторный прогон.

ИНСТРУКЦИИ В ОТНОШЕНИИ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения приемлемых результатов следует соблюдать следующие требования:

1. Система D-10 прошла калибрование. Для Ваших справок приемлемые диапазоны наклона и отсечения представлены во Вкладыше к набору калибраторов наборов определения гликированного гемоглобина A_{1c}.
2. Общая площадь каждого анализа должна варьировать в пределах диапазона от 1,0 до 4,0 миллиона мкВ • сек.
Если площадь выходит за пределы этого диапазона, то результаты сообщать не следует.
3. Пики правильно идентифицированы. Для Ваших справок окна времени удерживания определяемого компонента указаны во Вкладыше к Аналитическому картриджу определения гемоглобина A_{1c} D-10.
4. Величины контроля качества не выходят за пределы установленного диапазона.
5. Диапазон сообщаемых результатов: диапазон сообщаемых уровней HbA_{1c} при использовании набора реагентов – от 3,8 до 18,5 %. Этот диапазон был установлен на основании данных, представленных в разделе “Рабочие характеристики”. В целом, эти данные показывают, что линейный диапазон применения набора реагентов составляет от 3,8 до 18,5 % HbA_{1c}. Если результат выходит за пределы диапазона сообщаемых уровней, то величина % гемоглобина A_{1c} снабжается звездочкой (*) и не должна сообщаться.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Разведение пробы

Нормальная концентрация общего гемоглобина соответствует общей площади, равной примерно 2,5 миллиона мкВ • сек. Было осуществлено разведение проб цельной крови пациентов малого, среднего и большого объемов с получением общих площадей от 1,0 до 4,0 миллионов мкВ • сек. Эти пробы прогоняли с использованием набора реагентов для определения гликированного гемоглобина, с целью подтверждения того, что общая площадь не влияет на результат. Рекомендуемый диапазон общих площадей составляет от 1,0 до 4,0 миллионов мкВ • сек. Если площадь пробы выходит за пределы ожидаемого диапазона, то пробу следует предварительно разбавить вручную в соответствии с инструкциями, представленными в разделе “Подготовка пробы”.

Если площадь пробы снова оказывается за пределами ожидаемого диапазона, то пробу следует повторно развести таким образом, чтобы она оказалась в диапазоне общих площадей от 1,0 до 4,0 миллионов, и осуществить повторный прогон.

ПРИМЕЧАНИЕ: В некоторых случаях при высоких значениях общей площади и гемоглобина A_{1c} пробы (например, при гемоглобине A_{1c} равном 15% и общей площади, равной 4 М), пик гемоглобина A_{1c} может быть элюирован за пределы установленного окна удерживания. В этих случаях проба должна быть разведена до площади, равной примерно 2,5 М, с последующим осуществлением повторного прогона.

Аномальная продолжительность жизни эритроцита

Пробы пациентов с гемолитической анемией дают пониженные величины гликированного гемоглобина в связи с укороченной продолжительностью жизни эритроцита. Этот эффект зависит от тяжести анемии. Пробы пациентов с полицитемией или после перенесенной операции удаления селезенки могут давать повышенные уровни гликированного гемоглобина из-за несколько увеличенной продолжительности жизни эритроцитов.¹⁰

Варианты гемоглобина

Величины HbA_{1c}, полученные с помощью набора реагентов определения гемоглобина A_{1c} для проб крови пациентов с признаком HbS и больных диабетом с признаком HbC, не имели каких-либо клинически значимых отличий от величин, полученных с помощью боратного аффинного метода, сертифицированного NGSP. При исследовании образцов крови пациентов с признаком HbC, не страдающих диабетом, могут быть получены результаты ниже ожидаемого уровня. Типичные хроматограммы, получаемые у пациентов с признаком HbS и пациентов с признаком HbC, представлены на рис. 5 и 6. При редко встречающихся гомозиготных формах (SS или CC) HbA отсутствует; в связи с этим, какой-либо величины HbA_{1c} получить невозможно.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

Пробы пациентов с прочими аномальными вариантами гемоглобина, включая HbG, HbH и гемоглобин Уэйна, с помощью использования набора реагентов определения гемоглобина A_{1c} не изучали. Для получения положительного подтверждения в отношении любого конкретного варианта гемоглобина требуются альтернативные методы разделения.

ОЖИДАЕМЫЙ ДИАПАЗОН ВЕЛИЧИН

Диапазоны гемоглобина A_{1c}¹¹

С целью интерпретации результатов могут быть использованы диапазоны HbA_{1c}, указанные ниже; однако, при оценке степени контроля уровня глюкозы в крови следует также учитывать такие факторы как продолжительность сахарного диабета, соблюдение схемы терапии и возраст пациента. Приведенные величины неприменимы к беременным женщинам. Указание "Рекомендуется принятие мер" должно выполняться с учетом индивидуальных особенностей пациента. Такие меры могут включать в себя интенсивное обучение пациента методам самостоятельного лечения сахарного диабета, взаимопомощь больных сахарным диабетом при проведении лечения, направление к эндокринологу, изменение фармакотерапии, переход к более тщательному самостоятельному контролю уровня глюкозы в крови или учащение контактов с пациентом.

Гемоглобин A _{1c} (%)	Степень контроля уровня глюкозы
> 8	Рекомендуется принятие мер†
< 7	Целевой уровень‡
< 6	Недиабетический уровень

† Высокий риск развития осложнений в отдаленном периоде - таких как ретинопатия, нефропатия, нейропатия и кардиопатия. Указание "Рекомендуется принятие мер" должно выполняться с учетом индивидуальных особенностей пациента.

‡ Присутствует некоторая опасность гипогликемической реакции у больных диабетом I типа. У некоторых лиц с отсутствием толерантности к глюкозе и больных "субклиническим" диабетом этот диапазон может соответствовать повышенному уровню HbA_{1c}.

Расчет среднего уровня глюкозы в плазме (СУГП)

Расчет среднего уровня глюкозы в плазме (СУГП) за последние 60 дней на основании величины HbA_{1c} дает возможность получить дополнительную клиническую информацию. На основании анализа полученных в исследовании DCCT ежеквартальных величин HbA_{1c} и соответствующих профилей глюкозы в капиллярной крови, построенных по семи точкам, была выведена линейная регрессия, используемая для расчета СУГП.¹²

Этот расчет не может быть осуществлен на основе величин менее специфичных показателей (общего HbA₁ и общего гликированного гемоглобина), поскольку корреляция фракций HbA_{1a} и HbA_{1b} с длительным контролем уровня глюкозы очень сомнительна. Кроме того, известно, что негликозилированные аддукты, связанные с почечной недостаточностью, алкоголизмом, и т.д., увеличивают фракции HbA_{1a} и HbA_{1b}, приводя к завышению данных.¹³⁻¹⁵

Для расчета СУГП на основании величины HbA_{1c} следует использовать следующее уравнение линейной регрессии:

$$\text{Расчетная величина СУГП} = 35,6 (\% \text{HbA}_{1c}) - 77,3$$

HbA _{1c} (%)	Расчетная величина СУГП (мг/дЛ)
6,0	135
7,0*	170
9,0	240

* Целевой уровень, установленный Американской ассоциацией диабета (ADA).

Недиабетический (нормальный) диапазон

Недиабетические (нормальные) уровни должны устанавливаться каждой лабораторией исходя из характеристик исследуемой популяции.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

В Третьем национальном исследовании здоровья и питания, проведенном в США, были исследованы 20 испытуемых в возрасте ≥ 20 лет с нормальным уровнем глюкозы в плазме натощак, не имевшие ранее диагностированного сахарного диабета. Вещицы HbA_{1c} определяли с помощью системы Био-Рад ДИАМАТ™.

Взвешенный средний уровень HbA_{1c} для пациентов с нормальным уровнем глюкозы в плазме натощак ($n = 5694$) составил 5,17 % (стандартное отклонение – 0,45 %). 95 % доверительный интервал (средняя ± 2 стандартных отклонения) составил от 4,27 % до 6,07 % HbA_{1c}.

Поскольку набор реагентов для определения гликированного гемоглобина сертифицирован NGSP, этот нормальный диапазон может быть использован в качестве эталона до тех пор, пока лабораторией не будет проанализировано достаточное количество проб, позволяющее определить свои собственные нормальный и диабетический диапазоны, репрезентативные для местной исследуемой популяции.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность представления/воспроизведения

Точность представления/воспроизведения, обеспечиваемая набором реагентов, была оценена в одном исследовании, проведенном в соответствии с руководством NCCLS EP5-T2 "Оценка точности представления/воспроизведения, обеспечиваемой приборами, используемыми в клинической химии", адаптированным NGSP для применения в сертификации методов определения гликогемоглобина. В этом исследовании двумя анализаторами D-10 было выполнено 40 прогонов за 20 рабочих дней. При каждом прогоне осуществлялся двукратный анализ аликвот нормальных и диабетических проб. Результаты данного исследования точности представления/воспроизведения приведены в таблице 1.

Точность как степень приближения к истинной величине

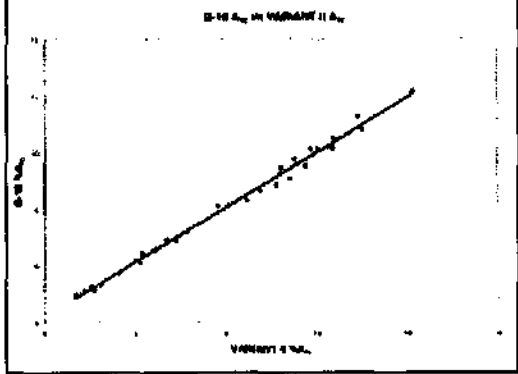
Таблица 1. Результаты исследования точности как степени приближения к истинной величине.

	Здоровый пациент	Больной сахарным диабетом
Средняя (% A _{1c})	6,0	10,3
В пределах прогона (вариационный коэффициент, %)	0,81	0,48
Между отдельными днями (вариационный коэффициент, %)	2,66	1,81
Между отдельными прогонами (вариационный коэффициент, %)	2,35	1,65
Общая точность как степень приближения к истинной величине (вариационный коэффициент, %)	3,64	2,49

Было осуществлено сравнение использования набора реагентов для определения гликированного гемоглобина: D-10, 400 (D-10 Reader Pack, 400 Test) и набора реагентов для определения гемоглобина A_{1c} в анализаторе ВАРИАНТ™ II. Одно сравнительное исследование было проведено на пробах 40 пациентов. См. рис. 1.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

наклон = 0,9743 отсечение = 0,3078 $R^2 = 0,9945$ Рис. 1. Корреляция между Программой определения гемоглобина A1c D-10 и Программой определения гемоглобина A1c ВАРИАНТ II.	% Hb A1c D-10	
		% Hb A1c ВАРИАНТ II.

Линейность/Извлечение

Для демонстрации линейности измерений уровня HbA_{1c} с помощью набора реагентов для анализатора D-10 на протяжении всего сообщаемого диапазона, были получены следующие нормальный и диабетический образцы HbA_{1c}:

Нормальный: К пробе цельной крови здорового пациента добавляли стандарт 1-го уровня из Линейного набора стандартов для определения гемоглобина A_{1c} Липочек® компании Био-Рад, с получением относительного уровня HbA_{1c}, равного 3,8 %.

Диабетический: К пробе цельной крови больного диабетом добавляли стандарт 4-го уровня из Линейного набора стандартов для определения гемоглобина A_{1c} Липочек® компании Био-Рад, с получением относительного уровня HbA_{1c}, равного 18,5 %.

Диабетическую пробу разбавляли нормальной пробой в различных соотношениях с получением определенных относительных процентов HbA_{1c} (теоретических процентов HbA_{1c}). Эти разбавленные пробы анализировали с помощью набора реагентов для анализатора D-10 (получали наблюдаемые проценты HbA_{1c}). Процент извлечения определяли путем деления наблюдаемого процента HbA_{1c} на теоретический процент HbA_{1c} и умножения полученного результата на 100. Результаты исследования линейности представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты исследования линейности и извлечения.

% вклада		Теоретические проценты HbA _{1c}	Наблюдаемые проценты HbA _{1c}	Процент извлечения
Нормальный	Диабетический			
100	0	3,8	3,8	100
80	20	6,6	6,6	100
67	33	8,6	8,5	99
50	50	11,0	11,0	100
33	67	13,5	13,2	98
20	80	15,4	15,2	99
0	100	18,5	18,5	100

Вещества, создающие помехи

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c}, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

Лабильный A_{1c} – Для оценки уровня помех объединенные пробы пациентов с нормальными и диабетическими уровнями A_{1c} были разделены на аликвоты. К этим аликвотам добавляли исходный раствор глюкозы, и в результате получали концентрации глюкозы 200-700 мг/дЛ. Эти аликвоты инкубировали в течение трех часов, чтобы стимулировать образование лабильного A_{1c}. Полученные результаты (см. таблицу 3) показали, что уровни лабильного гемоглобина A_{1c}, не превышающие 4 %, не оказывают клинически значимого влияния на количественное определение гемоглобина A_{1c}.

Таблица 3. Результаты исследования помех, создаваемых лабильным гемоглобином A_{1c}.

Здоровые испытуемые		Больные диабетом	
% лабильного гемоглобина A _{1c}	% гемоглобина A _{1c}	% лабильного гемоглобина A _{1c}	% гемоглобина A _{1c}
1,3	6,0	1,7	9,8
4,0	6,1	4,6	9,7

Липемические пробы – Были получены две объединенные пробы пациентов, представляющие нормальные и диабетические уровни гемоглобина A_{1c}. Эти пробы отцентрифугировали и из каждой пробы удалили плазму. Были получены пробы сыворотки с уровнями триглицеридов, варьировавшими в примерном диапазоне от 100 до 6000 мг/дЛ. Затем были приготовлены объединенные пробы сыворотки с концентрациями триглицеридов, указанными в таблице 4. После этого аликвоты проб эритроцитов здоровых людей и больных диабетом соединяли с равными объемами объединенных проб сыворотки с известными концентрациями триглицеридов и проводили двухкратный анализ с помощью набора реагентов D-10. Полученные результаты показали, что триглицериды в концентрации до 5680 мг/дЛ не оказывают какого-либо клинически значимого воздействия на количественное определение гемоглобина A_{1c}.

Таблица 4. Результаты исследования липемических проб.

Уровни триглицеридов (мг/дЛ)	Процент гемоглобина A _{1c} у здоровых испытуемых	Процент гемоглобина A _{1c} у больных диабетом
101	5,1	9,4
1500	5,0	9,7
3000	5,0	9,7
4500	5,0	9,7
5680	5,0	9,6

Желтуха — С целью изучения воздействия желтухи на результаты определения процентов HbA_{1c} с помощью набора реагентов для анализатора D-10, к объединенным пробам цельной крови с нормальными и диабетическими уровнями гемоглобина A_{1c} добавляли исходный раствор конъюгированного билирубина в концентрации 0,1 мг/мЛ; в результате получали уровни конъюгированного билирубина в цельной крови в диапазоне от 0 до 20 мг/дЛ. Анализ проб с помощью набора реагентов для анализатора D-10 осуществляли двукратно.

Результаты, представленные в таблице 5, показывают, что концентрации билирубина ≤ 20 мг/дЛ не создают помех для измерения процентов гемоглобина A_{1c}.

Таблица 5. Результаты исследования иктеричных проб.

Концентрация билирубина (мг/дЛ)	Процент гемоглобина A _{1c} у здоровых испытуемых	Процент гемоглобина A _{1c} у больных диабетом
---------------------------------	---	--

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c}, гемоглобинов A₂ и F на анализаторе D-10

0	5,9	10,2
20	5,9	10,2

Гемоглобин F (HbF) – Две объединенные пробы пациентов, представляющие нормальные и диабетические уровни гемоглобина A_{1c}, были разделены на аликвоты. Исследовали по одной аликвоте каждого уровня, содержащей добавленный очищенный гемоглобин F в количестве 5 и 10 %. Результаты, представленные в таблице 6, показывают, что уровни HbF ≤ 10 % не оказывают клинически значимого воздействия на количественное определение гемоглобина A_{1c}.

Таблица 6. Результаты исследования помех, создаваемых гемоглобином F.

Добавленный гемоглобин F (%)	Процент гемоглобина A _{1c} у здоровых испытуемых	Процент гемоглобина A _{1c} у больных диабетом
0	5,1	8,5
5	5,1	8,6
10	5,3	8,7

Карбамилированный гемоглобин – Почечная недостаточность может приводить к повышению уровня карбамилированного гемоглобина, который элюируется совместно с лабильным HbA_{1c}. С целью оценки уровня помех, создаваемых карбамилированным гемоглобином, объединенные пробы пациентов с нормальными и диабетическими уровнями гемоглобина A_{1c} были разделены на две аликвоты. По одной аликвоте каждого уровня инкубировали с 0,05 М раствором цианата калия до тех пор, пока уровень карбамилированного гемоглобина не повышался примерно на 2 %. Обе аликвоты каждого уровня анализировали с помощью набора реагентов для анализатора D-10 двукратно. Результаты, представленные в таблице 7, показывают, что уровни карбамилированного гемоглобина, не превышающие 2 %, не оказывают клинически значимого воздействия на количественное определение гемоглобина A_{1c}.

Таблица 7. Результаты исследования помех, создаваемых карбамилированным гемоглобином.

Здоровые испытуемые		Больные диабетом	
% карбамилированного гемоглобина	% гемоглобина A _{1c}	% карбамилированного гемоглобина	% гемоглобина A _{1c}
0,0	5,0	0,0	9,6
2,0	4,9	2,2	9,2

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Био-Рад

D-10

Серийный номер: DA2F002003

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 5

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 09/02/2004

ВРЕМЯ: 15:50

Версия программного обеспечения: 2.22-1

N

9/2/2004 в 15:50

Положение в штативе: 5

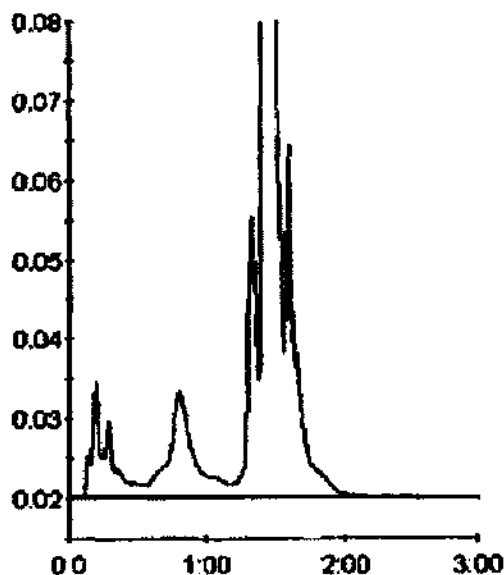


Таблица пиков – ID:N

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
A _{1a}	0,20	14532	60431	2,2
A _{1b}	0,29	9763	54490	2,0
LA _{1c} /CHb	0,67	3507	24455	0,9
A _{1c}	0,81	12564	129631	6,2
A0	1,43	616112	2504096	90,3
Общая площадь: 2773103				
Концентрация:				
% гемоглобина A _{1c} 6,2				

Рис. 2. Недиабетическая (нормальная) проба.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Био-Рад

D-10

Серийный номер: DA2F002003

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 6

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 09/02/2004

ВРЕМЯ: 15:53

Версия программного обеспечения: 2.22-1

D

9/2/2004 в 15:53

Положение в штативе: 6

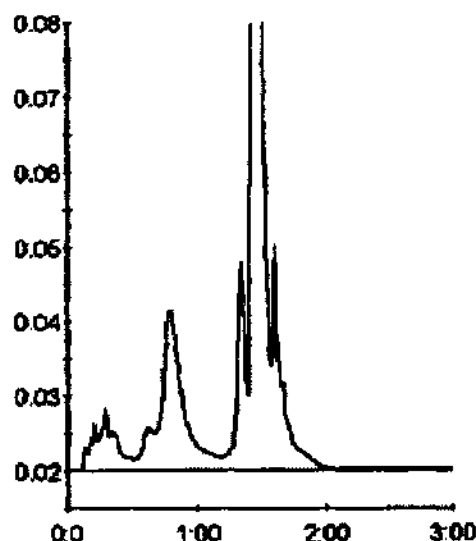


Таблица пиков – ID:D

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
Неизвестный	0,15	3126	8112	0,4
A _{1a}	0,21	6292	18144	0,9
A _{1b}	0,30	8420	31549	1,6
Неизвестный	0,36	5220	32851	1,7
LA _{1c} /CHb	0,64	5765	40261	2,1
A _{1c}	0,80	20705	211864	14,1
A0	1,44	401298	1604368	82,4
Общая площадь: 1946949				
Концентрация:				
% гемоглобина A _{1c} 14,1				

Рис.3. Диабетическая проба с повышенным уровнем гемоглобина A_{1c}.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Био-Рад

D-10

Серийный номер: DA2L129106

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 4

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 15/02/2003

ВРЕМЯ: 00:51

Версия программного обеспечения: 2.19-1

HB_F

15/2/2003 в 00:51

Положение в штативе: 4

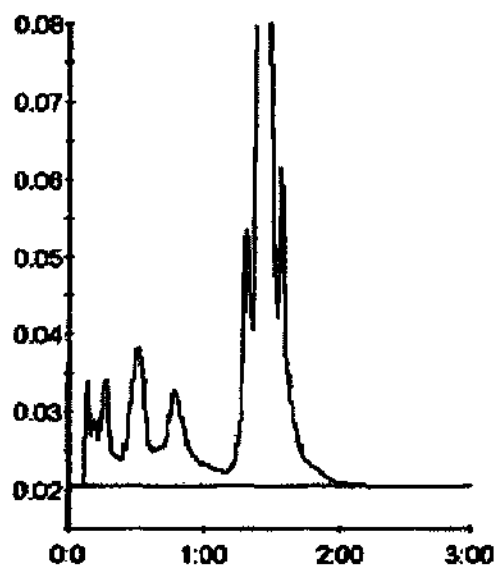


Таблица пиков – ID:HB_F

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
Неизвестный	0,14	13337	25513	0,9
A _{1a}	0,20	8175	25047	0,9
A _{1b}	0,28	13745	69190	2,4
F	0,52	17797	144519	5,0
A _{1c}	0,79	11234	120095	5,5
A0	1,41	618167	2528217	86,8
Общая площадь: 2912582				
Концентрация:				
% гемоглобина A _{1c} 5,5				

Рис. 4. Проба пациента с повышенным уровнем гемоглобина F.

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Био-Рад

D-10

Серийный номер: DA2F002003

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 7

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 09/02/2004

ВРЕМЯ: 15:56

Версия программного обеспечения: 2.22-1

AS

9/2/2004 в 15:56

Положение в штативе: 7

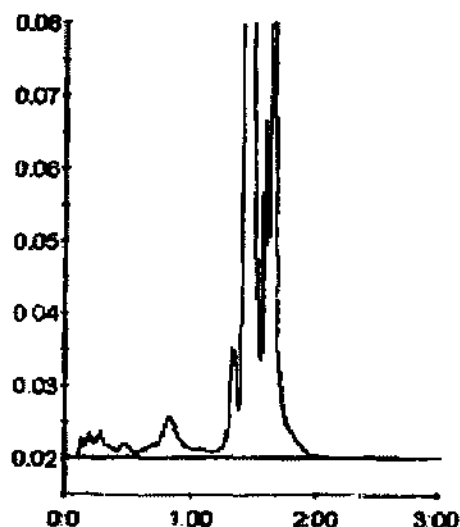


Таблица пиков – ID:AS

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
Неизвестный	0,15	1618	6621	0,3
A _{1a}	0,21	3238	10245	0,5
A _{1b}	0,30	3728	21599	1,0
F	0,48	1905	11809	0,5
Неизвестный	0,63	1101	4446	0,2
LA _{1c} /CHb	0,72	1782	11596	0,5
A _{1c}	0,84	5295	52027	5,7
A0	1,44	333200	1158534	53,8
S-окно	1,65	461527	876005	40,7
Общая площадь: 2152982				
Концентрация:				
% гемоглобина A _{1c} 5,7				

Рис. 5. Проба пациента с признаком гемоглобина S (серповидно-клеточной анемии) (AS)

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Био-Рад

D-10

Серийный номер: DA2F002003

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 10

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 09/02/2004

ВРЕМЯ: 16:05

Версия программного обеспечения: 2.22-1

AC

9/2/2004 в 16:05

Положение в штативе: 10

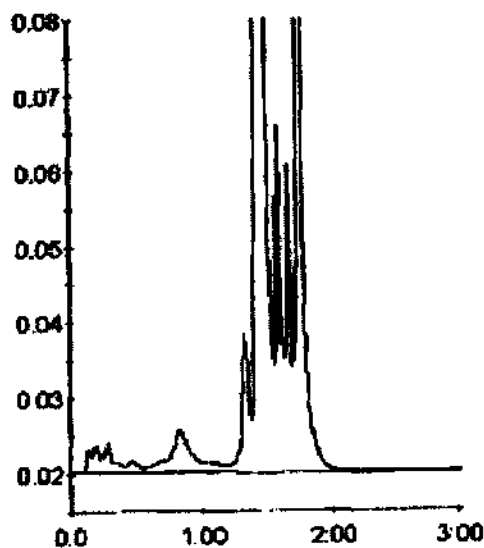


Таблица пиков – ID:AC

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
Неизвестный	0,15	3057	7589	0,3
A _{1a}	0,21	3713	11329	0,5
A _{1b}	0,30	4130	19989	0,9
F	0,48	1549	10535	0,5
LA _{1c} /CHb	0,70	1592	11079	0,5
A _{1c}	0,84	5302	53894	4,8
A0	1,44	358382	1466715	64,4
С-окно	1,76	408051	695705	30,6
Общая площадь: 2276836				
Концентрация:				
% гемоглобина A _{1c} 4,8				

Рис. 6. Проба пациента с признаком гемоглобина C (AC).

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

ИНФОРМАЦИЯ О БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКТА

Праймеры и калибраторы 1 и 2 гемоглобина A_{1c}

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Эти продукты содержат химическое вещество, которое, как известно в штате Калифорния, вызывает дефекты развития или другие нарушения репродуктивной функции. Содержат <0,1 % гентамицина сульфата и <0,1 % тобрамицина.

ИНФОРМАЦИЯ О ТОРГОВОЙ МАРКЕ

Анализаторы D-10 и ВАРИАНТ II являются торговыми марками компании Био-Рад Лабораториз, Инк. Липочек – зарегистрированная торговая марка компании Био-Рад Лабораториз, Инк.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. American Diabetes Association Home Page. <http://www.diabetes.org> (accessed Jan 2003).
2. *Diabetes in the 1980's Challenges for the Future: Report of the National Diabetes Advisory Board*; NIH Publication No.82-2143; U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health: Washington, DC, 1982.
3. Forsham, P. H. Diabetes Mellitus: A Rational Plan for Management. *Postgrad. Med.* 1982, 71, 139-154.
4. Hollander, P. The Case for Tight Control in Diabetes. *Postgrad. Med.* 1984, 75, 80-87.
5. Baynes, J. W.; Bunn, H. F.; Goldstein, D.; Harris, M.; Martin, D. B.; Peterson, C.; Winterhalter, K. National Diabetes Data Group: Report of the Expert Committee on Glycosylated Hemoglobin. *Diabetes Care* 1984, 7, 602-606.
6. Nathan, D. M.; Singer, D. E.; Hurxthal, K.; Goodson, J. D. The Clinical Information Value of the Glycosylated Hemoglobin Assay. *N. Engl. J. Med.* 1984, 310, 341-346.
7. Mayer, T. K.; Freedman, Z. R. Protein Glycosylation in Diabetes Mellitus: A Review of Laboratory Measurements and of Their Clinical Utility. *Clin. Chim. Acta* 1983, 127, 147-184.
8. Rohlfing, C. L.; Little, R. R.; Wiedmeyer, H. M.; England, J. D.; Madsen, R.; Harris, M. I.; Flegal, K. M.; Eberhardt, M. S.; Goldstein, D. E. Use of GHb (HbA_{1c}) in Screening for Undiagnosed Diabetes in the U.S. Population. *Diabetes Care* 2000, 23, 187-191.
9. Procedure Manual - IFCC Network of Reference Laboratories for HbA_{1c}. Dr. Cas Weykamp, IFCC Network Coordinator, c.w.veykamp@skbwinterswijk.nl, website: www.ifcc-hba1c.com
10. Panzer, S.; Kronik, G.; Lechner, K.; Bettelheim, P.; Neumann, E.; Dudczak, R. Glycosylated Hemoglobins (GHb): An Index of Red Cell Survival. *Blood* 1982, 59, 1348-1350.
11. American Diabetes Association. Standards of Medical Care for Patients with Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2001, 24 (Suppl. 1), 33-43.
12. Rohlfing, C. L.; Wiedmeyer, H. M.; Little, R. R.; England, J. D.; Tennill, A.; Goldstein, D. E. Defining the Relationship Between Plasma Glucose and HbA_{1c}. *Diabetes Care* 2002, 25, 275-278.
13. Little, R. R.; England, J. D.; Wiedmeyer, H. M.; Goldstein, D. E. Effects of Whole Blood Storage on Results for Glycosylated Hemoglobin as Measured by Ion-Exchange Chromatography, Affinity Chromatography, and Colorimetry. *Clin. Chem.* 1983, 29, 1113-1115.
14. Flückiger, R.; Harmon, W.; Meier, W.; Loo, S.; Gabbay, K. H. Hemoglobin Carbamylation in Uremia. *N. Engl. J. Med.* 1981, 304, 823-827.
15. Hoberman, H. D.; Chiodo, S. M. Elevation of the Hemoglobin A₁ Fraction in Alcoholism. *Alcohol.: Clin. Exp. Res.* 1982, 6, 260-266.

L20012103 Инструкция

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A1c, гемоглобинов A2 и F на анализаторе D-10

ПРИМЕЧАНИЯ:

Контакты с целью получения технической информации

Для оказания технической помощи компанией Био-рад выделена бесплатная круглосуточная телефонная линия, доступная в течение 7 дней в неделю. Бесплатный телефонный номер, доступный для использования в Соединенных Штатах Америки и Пуэрто-Рико - 1-800-2BIORAD (224-6723).

За пределами США за помощью следует обращаться в региональный офис компании Био-рад.

Дата вступления в силу: декабрь 2004 г.

L20012103 Инструкция

REF

220-0101 220-0109 D-10™

L20012103

**«Наборы реагентов и реагенты для
определения гликозилированного
гемоглобина на анализаторе D-10»**

**Инструкция по применению изделия медицинского
назначения.**



Био-Рад Лабораториз, Инк. Hercules, California, 94547, СОЕДИНЕННЫЕ ШТАТЫ



Био-Рад, Marnes-la-Coquette, ФРАНЦИЯ

L20012103 Инструкция

Компакт-диск с информацией на многих языках

Это руководство включает в себя CD-ROM с информацией на английском, немецком, французском, испанском, итальянском, португальском, шведском, датском и греческом языках.

Символы, предусмотренные Директивой ЕС для применения в отношении средств диагностики in vitro (IVDD, 98/79/EC)

 Соответствует требованиям ЕС	 Производитель	 Уполномоченный представитель в Европейском Союзе
 Номер партии	 Использовать до:	 Для применения с целью диагностики in vitro
 Предельная температура	 Номер в каталоге	 Ознакомьтесь с инструкциями по применению

Символы, предусмотренные Директивой ЕС для применения в отношении средств диагностики in vitro (IVDD, 98/79/EC)

BUF 1 Буфер для элюции № 1	BUF 2 Буфер для элюции № 2	WSH DIL SOLN Раствор для промывки/разведения	ANLT CRTR Аналитический картридж
DISK Флоппи-диск	RESIN Смола	CAL DIL SET Набор калибраторов/разбавителя	CAL SET Набор калибраторов
CAL 1 Калибратор 1-го уровня	CAL 2 Калибратор 2-го уровня	CAL DIL Калибратор/разбавитель	RECON Восстановление с помощью:
WB PRM Затравка цельной крови	DI H₂O Деионизированная вода	SAMP ФЛАКОН Флаконы пробы	USE Для использования с:

СОДЕРЖАНИЕ

Страница

Назначение.....	2
Резюме и разъяснение теста.....	2
Принцип методики.....	2
Компоненты набора.....	3
Дополнительные компоненты, которые можно приобрести у компании Био-Рад.....	4
Необходимые дополнительные компоненты, которые не могут быть приобретены у компании Био-Рад.....	4
Меры предосторожности/предостережения.....	4
Взятие пробы и обращение с ней.....	5
Приготовление и хранение реактивов.....	5
Признаки нестабильности или ухудшения качества реактивов.....	6
Методика.....	7
Выбор метода.....	7
Установка комплекта повторного заказа новой партии (флорпи-диска обновления набора).....	7
Процедура подготовки аналитического картриджа.....	7
Калибрование.....	7
Обычный прогон.....	8
Установка дополнительного комплекта реактивов.....	8
Сертификация/отслеживаемость до эталонного материала и метода.....	8
Требования контроля качества.....	8
Инструкции в отношении интерпретации результатов.....	9
Ограничения методики.....	9
Ожидаемый диапазон величин.....	10
Рабочие характеристики.....	11
Точность представления/воспроизведения.....	11
Степень приближения к истинной величине.....	11
Линейность/Извлечение.....	12
Вещества, создающие помехи.....	12
Лабильный гемоглобин A _{1c}	12
Липемические пробы.....	13
Желтуха.....	13
Гемоглобин F (HbF).....	14
Карбамилированный гемоглобин.....	14
Форма отчета об исследовании пробы.....	15
Информация о безопасности продукта.....	20
Информация о торговой марке.....	20
Список литературы.....	20

L20012103 Инструкция

НАЗНАЧЕНИЕ

Наборы реагентов для определения гликозилированного гемоглобина D-10 компании Био-Рад предназначены для определения процента гемоглобина A_{1c} в цельной крови человека с помощью ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Наборы реагентов предназначены для использования в анализаторе для определения гликозилированного гемоглобина D-10 компании Био-Рад.

Наборы реагентов предназначены для использования с целью диагностики *in vitro*.

РЕЗЮМЕ И РАЗЪЯСНЕНИЕ ТЕСТА

Сахарный диабет – это заболевание, характеризующееся наличием гипергликемии, связанной с неспособностью организма использовать глюкозу, присутствующую в крови, для выработки энергии. При сахарном диабете I типа прекращается выработка инсулина поджелудочной железой, в связи с чем глюкоза, присутствующая в крови, не может поступать в клетки для их последующего использования с целью получения энергии. При сахарном диабете II типа имеет место либо недостаточность выработки инсулина поджелудочной железой, либо неспособность организма правильно использовать инсулин.¹ Осложнения сахарного диабета, включая поражения глаз, почек, нервов и крупных кровеносных сосудов сердца, головного мозга и конечностей, характерны для обеих форм данного заболевания.² Сахарным диабетом поражены более 5 % населения земного шара.

Лечение сахарного диабета предусматривает длительное поддержание как можно более близкого соответствия уровня глюкозы в крови ее нормальному уровню с целью минимизации риска отдаленных сосудистых осложнений.^{3,4} Одинокое определение уровня глюкозы в крови натошак свидетельствует о состоянии пациента в период времени, непосредственно предшествующий данному определению (в предыдущие несколько часов), но не может охарактеризовать истинное состояние регуляции уровня глюкозы в крови.^{5,6} Точный показатель – среднюю концентрацию глюкозы в крови – можно определить путем измерения уровня гемоглобина A_{1c} (HbA_{1c}) через каждые 2-3 месяца.^{3,5,6}

Определяемый гликогемоглобин HbA_{1c} образуется в два этапа посредством неферментного гликирования HbA . Первый этап заключается в образовании нестабильного альдимины (лабильного гемоглобина A_{1c} , или пре-гемоглобина A_{1c}) – обратимой реакции между карбонильной группой глюкозы и N-концевым валином β -цепи гемоглобина. Образование лабильного гемоглобина A_{1c} прямо пропорционально концентрации глюкозы в крови. В циркулирующих эритроцитах некоторое количество лабильного гемоглобина A_{1c} преобразуется в стабильный кетоамин гемоглобин HbA_{1c} ⁷ (“преобразование Амадори”).

Уровень HbA_{1c} пропорционален средней концентрации глюкозы и продолжительности циркуляции эритроцита. В связи с этим, определение уровня HbA_{1c} было принято в качестве средства регулярного клинического контроля состояния пациентов при сахарном диабете.⁷ Методы определения уровня HbA_{1c} включают в себя электрофорез, иммунные тесты и хроматографию.

Методика использования набора реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c} D-10 основана на хроматографическом выделении HbA_{1c} в катионообменном картридже. Выделение HbA_{1c} оптимизировано таким образом, чтобы свести к минимуму помехи со стороны вариантов гемоглобина, лабильного гемоглобина A_{1c} и карбамилированного гемоглобина. Дополнительная информация представлена в разделах “Ограничения методики” и “Рабочие характеристики”. Кроме того, программа определения гемоглобина A_{1c} D-10 предусматривает автоматическое взятие пробы из пробирки с первичным образцом цельной крови с последующим разведением пробы; время анализа одной пробы составляет 3 минуты.

ПРИНЦИП МЕТОДИКИ

Методика использования наборов реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c} на анализаторе D-10 основана на принципах ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Анализатор D-10 автоматически разводит пробу, после чего осуществляется инъекция пробы в аналитический картридж. Анализатор D-10 создает в картридже запрограммированный буферный градиент возрастающей концентрации ионов, благодаря которому осуществляется разделение гемоглобинов на основе их ионных взаимодействий с материалом картриджа. Затем разделенные гемоглобины проходят через проточную ячейку фильтренного фотометра, где осуществляются измерения изменений поглощения при длине волны 415 нм.

L20012103 Инструкция

Программное обеспечение анализатора D-10 обеспечивает обработку первичных данных, получаемых при каждом анализе. Для количественного определения HbA_{1c} используется двухуровневое калибрование. В связи с каждой пробой выдаются отчет о пробе и хроматограмма. Площадь гемоглобина A_{1c} рассчитывается с помощью экспоненциально модифицированного гауссова (EMG) алгоритма, исключающего площади пиков лабильного гемоглобина A_{1c} и карбамилированного гемоглобина при определении площади пика гемоглобина A_{1c}.

Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c} D-10 предназначен для использования в анализаторе для определения гликозилированного гемоглобина D-10 Био-Рад.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

220-0101 Набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина (D-10 Hemoglobin A1c Program Reorder Pack)

Данный набор содержит принадлежности, рассчитанные на выполнение 400 тестов:

REF

Описание

- *Рабочий буфер D-10 № 1. Две бутылки, содержащие 2000 мЛ Бис-Трис/фосфатного буфера, pH 6,0. Содержат < 0,05 % азида натрия в качестве консерванта.
- *Рабочий буфер D-10 № 2. Одна бутылка, содержащая 1000 мЛ Бис-Трис/фосфатного буфера, pH 6,7. Содержит < 0,05 % азида натрия в качестве консерванта.
- *Раствор для промывки и разведения D-10. Одна бутылка, содержащая 1600 мЛ деионизированной воды. Содержит < 0,05 % азида натрия в качестве консерванта.
- *Аналитическая колонка D-10. Один катионообменный картридж размерами 4,0 мм (внутренний диаметр) x 30 мм.
- *Дискета с программой содержит параметры программы определения гемоглобина A_{1c} D-10.
- *Набор калибраторов D-10. Один набор состоит из трех флаконов с калибратором 1-го уровня, трех флаконов с калибратором 2-го уровня и одной бутылки с разбавителем калибратора. Флаконы калибратора содержат лиофилизированный гемолизат эритроцитов человека с гентамицином, тобрамицином и ЭДТА в качестве консервантов. В каждом флаконе восстановленный объем равен 7 мЛ. Бутылка с разбавителем калибратора содержит 100 мЛ деионизированной воды и < 0,05 % азида натрия в качестве консерванта. Аннотация к набору калибраторов.
- *Праймер Четыре флакона лиофилизированного гемолизата эритроцитов человека с гентамицином, тобрамицином и ЭДТА в качестве консервантов. В каждом флаконе восстановленный объем равен 1,0 мЛ.
- Микропробирки. 100 полипропиленовых пробирок объемом 1,5 мЛ с прокалываемыми крышками.
- Термобумага один рулон.
- * не поставляется отдельно

*Компоненты не продаются по отдельности.

REF

220-0109, Дополнительный набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина A_{1c} (D-10 Hemoglobin A1c Supplemental Reagent Pack)

Данный набор реагентов используется в качестве дополнения к набору реагентов для определения гликозилированного гемоглобина (D-10 Hemoglobin A1c Reorder Pack, 400 Test) с целью обеспечения пользователей с низким объемом тестов буферными растворами и раствором для промывки/разведения на 400 тестов.

L20012103 Инструкция

REF

Описание

- 220-0110* Рабочий буфер D-10 № 1. Две бутылки, содержащие 2000 мЛ Бис-Трис/фосфатного буфера, pH 6,0. Содержат < 0,05 % азиды натрия в качестве консерванта.
- 220-0111* Рабочий буфер D-10 № 2. Одна бутылка, содержащая 1000 мЛ Бис-Трис/фосфатного буфера, pH 6,7. Содержит < 0,05 % азиды натрия в качестве консерванта.
- 220-0112* Раствор для промывки/разведения D-10. Одна бутылка, содержащая 1600 мЛ деионизированной воды. Содержит < 0,05 % азиды натрия в качестве консерванта.

**Компоненты не продаются по отдельности.*

ПРИМЕЧАНИЕ: Система D-10 рассчитывает уровни буферных растворов и отходов исходя из того, что объем тестов составляет не менее 200 в месяц и не менее 4 проб за один прогон. Пользователи с низким объемом тестов полностью расходуют буферные растворы и заполняют наружный резервуар для отходов еще до появления на дисплее соответствующих предупреждающих сообщений. Перед каждым прогоном проверяйте визуально уровни буферных растворов и уровень отходов в резервуаре для отходов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ, КОТОРЫЕ МОЖНО ПРИОБРЕСТИ У КОМПАНИИ БИО-РАД

REF

Описание

- 220-0297 Адаптер флакона пробы, 10 x 1,5 мЛ
- 220-0375 Термографическая бумага D-10, 10 рулонов
- 740 Двухуровневый контроль сахарного диабета Липочек®, 6 x 0,5 мЛ
- 120 Линейный набор стандартов для определения гемоглобина A_{1c} Липочек® (по одному для каждого из 4 уровней), 4 x 0,5 мЛ

НЕОБХОДИМЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ, КОТОРЫЕ НЕ МОГУТ БЫТЬ ПРИОБРЕТЕНЫ У КОМПАНИИ БИО-РАД

Описание

- Пипетки, 5 мкЛ, 0,5 мЛ, 1 мЛ, 7 мЛ
- Деионизированная вода
- Одноразовые перчатки

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ / ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Любые материалы человеческого происхождения следует считать инфицированными и обращаться с ними с использованием типичных процедур, обеспечивающих биологическую безопасность.
2. В местах выполнения операций с пробами пациентов и реактивами данного теста не следует курить, а также принимать пищу или напитки.
3. Не пользуйтесь пипеткой с помощью рта.
4. При выполнении операций с какими бы то ни было реактивами и пробами, а также при эксплуатации системы D-10, пользуйтесь средствами персональной защиты.
5. Удаляйте все отходы в соответствии с применимыми федеральными и/или местными правилами.
6. Некоторые реактивы содержат азид натрия, который может взаимодействовать с медной или свинцовой сантехникой с образованием взрывоопасных азидов металлов. При удалении этих реактивов следует проявлять осторожность. При удалении через канализацию следует проливать канализационную трубу большими объемами воды во избежание накопления азидов.
7. Удаляемые или обрабатываемые отходы, содержащие пробы пациентов или биологические продукты, следует считать биологически опасными.
8. Операции с химическими реактивами следует осуществлять в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики.
9. Дополнительная информация о безопасности и предостережения в отношении химических рисков представлены в разделе "Информация о безопасности продукта".

L20012103 Инструкция

10. При расплескивании следует незамедлительно и тщательно удалять весь проливаемый материал. Дезинфицируйте места проливов биологически опасных материалов. Удаляйте все инфицированные материалы соответствующим образом.
11. Не используйте набор после истечения срока его годности. Срок годности указан на коробке с набором.
12. Не допускайте взаимной замены крышек и пробок флаконов или бутылок, так как это приводит к перекрестному загрязнению реативов.
13. Каждая единица цельной крови, использованная при производстве калибраторов, и заправка цельной крови были испытаны с помощью методов, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA), и дали отрицательный результат в анализах на ВИЧ-1, ВИЧ-2, гепатит В (вирус гепатита В), гепатит С (вирус гепатита С) и сифилис. Однако, ни один метод анализа не может предоставить полной гарантии отсутствия этих или других инфекционных агентов в продуктах, содержащих исходный человеческий материал. В соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики, любой исходный человеческий материал следует считать потенциально зараженным любым инфекционным агентом; в связи с этим, с калибраторами и заправкой цельной крови следует обращаться с соблюдением тех же мер предосторожности, которые применяются в отношении образцов, получаемых от пациентов.
14. Для обеспечения адекватной работы данного продукта требуется соблюдение протокола, приведенного в этом документе.
15. Никогда не смешивайте содержимое разных бутылок, содержащих один и тот же реагент, так как это может привести к загрязнению реагента и нарушить работу продукта.
16. Пробки флаконов калибратора и заправки изготовлены из сухого натурального каучука.
17. Не используйте разбавитель калибратора для предварительного разведения проб пациентов.

ВЗЯТИЕ ПРОБЫ И ОБРАЩЕНИЕ С НЕЙ

Вид пробы

Цельная кровь, капиллярная кровь

Меры предосторожности при взятии пробы

Любые материалы человеческого происхождения следует считать инфицированными и обращаться с ними с использованием типичных процедур, обеспечивающих биологическую безопасность.

Добавки к пробе, консерванты

Пробы цельной крови следует собирать в вакуумные пробирки для сбора проб с ЭДТК.

Хранение проб

Пробы цельной крови можно хранить в течение периода до 7 дней при температуре 2-8 °С.

Подготовка пробы

1. Перед проведением анализа следует дождаться, пока температура пробирки с пробой не достигнет 15-30 °С (комнатной температуры). При комнатной температуре пробы стабильны в течение 3 дней. Какой-либо подготовки пробы не требуется. Смешивание не оказывает какого-либо влияния на получаемую величину HbA_{1c} , если вся площадь уместается в пределах диапазона измерений. Пробирки с пробой загружают в штатив для проб D-10 и помещают в систему D-10. Штриховые коды проб должны быть обращены к задней стенке прибора. Должны быть использованы специальные вкладыши в штативы для пробирок диаметром 12, 13 и 14 мм. Удалите все вкладыши для пробирок диаметром 16 мм. Для использования пригодны пробирки высотой 75-100 мм.
2. Если проба находится в пробирке неподходящего размера или типа, а также если количество пробы, присутствующее в пробирке, составляет менее 2,0 мЛ, то проба должна быть предварительно разбавлена. Для предварительного разбавления необходимо перенести пипеткой 1,5 мЛ раствора для промывки/разведения во флакон объемом 1,5 мЛ, снабженный этикеткой, а затем добавить в него 5 мкЛ пробы цельной крови. Закройте флакон с пробой крышкой и тщательно перемешайте. Используйте адаптер для флаконов с пробой, рассчитанный на флаконы объемом 1,5 мЛ.

Транспортировка проб

L20012103 Инструкция

Все пробы человеческого происхождения следует транспортировать в соответствии с национальными и международными правилами транспортировки.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Назначаемые величины и диапазоны указаны во вкладыше, прилагаемом к партии калибраторов и контролей. Для обеспечения оптимальной работы программы, при переходе к использованию другой партии реактивов и/или картриджей необходимо устанавливать параметры, взятые из соответствующего флоппи-диска. При установке или смене буферов, раствора для промывки/разведения и аналитической колонки следует соблюдать процедуры, описанные в 4-м разделе Руководства по эксплуатации D-10.

Рабочие буферы и раствор для промывки/разведения

1. Перед проведением анализа следует дождаться, пока температура буферов и раствора для промывки/разведения не достигнет 15-30 °C (комнатной температуры). Перед установкой каждой бутылки перемешивайте ее содержимое, плавно переворачивая вверх дном.
2. Буферы и раствор для промывки/разведения остаются стабильными до даты истечения срока годности при их хранении без вскрытия емкости при температуре 15-30 °C. После вскрытия бутылей эти реактивы сохраняют стабильность в течение 8 недель при их хранении при температуре 15-30 °C.
3. При использовании нового набора реагентов установите по одной бутылке каждого реактива и следуйте процедуре "Установка нового набора реагентов новой партии", описанной в разделе "Методика". После 200 инъекций устанавливайте новую бутылку Буфера № 1.
4. После установки Буфера № 1 заново устанавливайте уровень для данного реактива.
5. Допускается взаимная замена растворов для промывки/разведения между наборами реагентов разных партий.

Праймер

При установке новой аналитической колонки используйте свежие аликвоты праймера.

1. Праймер остается стабильным до даты истечения срока годности при его хранении без вскрытия емкости при температуре 2-8 °C.
2. Приготовьте праймер путем добавления во флакон 1 мЛ деионизированной воды.
3. Осторожно воспользовавшись мешалкой, добейтесь растворения и полного перемешивания.
4. Дайте отстояться в течение 10-15 минут при 15-30 °C.
5. Укажите на этикетке дату восстановления. Восстановленный праймер стабилен в течение одного дня при его хранении при температуре 2-8 °C.
6. Допускается использование праймеров разных партий.

Калибраторы гемоглобина A_{1c}

Восстановление и хранение калибраторов HbA_{1c} должно осуществляться в соответствии с инструкциями, содержащимися во Вкладыше к набору калибраторов/разбавителя.

Экстрагируемые стандарты

В данном методе ВЭЖХ экстрагируемые стандарты не используются.

Контроли

Восстановление и хранение контролей должно осуществляться в соответствии с инструкциями, содержащимися во вкладыше в упаковку изготовителя.

Контроли сахарного диабета Липочек компании Био-Рад перед анализом следует разбавлять в соотношении 1:300. С помощью пипетки перенесите 1,5 мЛ раствора для промывки/разведения во флакон объемом 1,5 мЛ с прикрепленной этикеткой, а затем добавьте 5 мкЛ восстановленного контроля.

Закройте каждый флакон с контролем крышкой и тщательно перемешайте его содержимое.

ПРИЗНАКИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ИЛИ УХУДШЕНИЯ КАЧЕСТВА РЕАКТИВОВ

В случае замораживания реактивов при транспортировке, перемешивайте содержимое каждой бутылки перед ее установкой в прибор с помощью плавного переворачивания.

Храните все реактивы при температуре, указанной на этикетке, и не используйте их после истечения срока годности.

Не используйте восстановленные материалы (калибратор, праймер) после истечения их срока годности.

L20012103 Инструкция

Не используйте какие-либо реактивы, имеющие какие-либо признаки изменения цвета, помутнения или выпадения осадка.

Не используйте какие-либо реактивы, имеющие какие-либо признаки протекания из емкости.

Не используйте калибратор или праймер, если гранула имеет коричневый цвет или флакон поврежден. Если лиофилизированный материал содержит нерастворимое вещество, то этот материал следует выбросить и осуществить восстановление материала другого флакона.

ПРОЦЕДУРА

Выбор метода

С помощью LOT INFO на дисплее:

- Нажмите на "METHOD" на сенсорном экране.
- Выберите желаемый метод (HbA_{1c}).
- Нажмите на "EXIT".
- Нажмите на "YES", чтобы подтвердить изменение метода.
- Нажмите на "EXIT".
- Выбранный метод указан слева от строки состояния.

Если Вы не устанавливаете новую партию реактивов, то необходимость в промывании системы отсутствует.

Установка нового набора реагентов новой партии (флорпи-диска обновления набора)

- Перейдите к LOT INFO на дисплее.
- Нажмите на кнопку "UPDATE KIT" ("Обновление набора").
- Вставьте флорпи-диск обновления набора в A:\дискковод.
- Выполните представленные на экране инструкции по процедуре обновления набора.
- Извлеките флорпи-диск из A:\дискковод после выполнения процедуры.

Процедура подготовки аналитической колонки

- Перенесите пипеткой 1 мЛ восстановленного праймера во флакон с пробой. Поместите флакон с пробой в адаптер флакона с пробой, к которому прикреплена этикетка со штрих-кодом PRIME, затем поместите адаптер в положение № 1 штатива проб.
- Запустите прогон. После завершения прогона колонка готова к калиброванию.

Калибрование

Калибрование должно осуществляться один раз после установки и подготовки каждой новой аналитической колонки.

- Подготовьте пробы так, как описано в разделе "Подготовка пробы".
- Введите калибраторы и контроли в систему D-10. Используйте адаптеры флаконов с пробами для флаконов с калибраторами и контролями объемом 1,5 мЛ. Адаптеры должны иметь штрих-коды, идентифицирующие вид пробы.

Порядок проб с калибраторами:

№ пробы	Реактив	Адаптер
1	Калибратор HbA_{1c} , Уровень 1	CAL1
2	Калибратор HbA_{1c} , Уровень 2	CAL2
3	Контроль, Уровень 1	CTRL
4	Контроль, Уровень 2	CTRH
5 – 10	Пробы пациентов	

ПРИМЕЧАНИЕ: Величины определяемого компонента, распечатываемые в калибрационных отчетах – это величины, назначенные калибраторам. В случае безуспешного калибрования, в отчетах указываются эти назначенные величины; однако, в конце калибрационного отчета присутствует запись: "Неудачная попытка калибрования". Если НЕ ВЫБРАНА предупреждающая установка "Остановить в случае безуспешности калибрования" (см. раздел 2 Руководства по эксплуатации D-10), то прогон будет продолжаться с

использованием калибровочных коэффициентов из предшествующего приемлемого прогона калибрования. В разделе 6 Руководства по эксплуатации D-10 представлены инструкции по поиску и устранению нарушений.

Обычный прогон

После процедуры калибрования аналитической колонки следует воспользоваться следующей конфигурацией прогона. Информация о частоте включения в прогон контрольных проб представлена в разделе "Требования контроля качества".

Порядок проб без калибраторов:

№ пробы	Реактив
1	Контроль, Уровень 1
2	Контроль, Уровень 2
3 – 10	Пробы пациентов

Установка дополнительного набора реагентов

• При установке реактивов из Дополнительного набора реагентов необходимо всегда использовать взаимосоответствующие Буфер № 1 и Буфер № 2. Ни в коем случае не используйте бутылку с буфером из набора реагентов для определения гликозилированного гемоглобина: D-10, 400 (D-10 Reader Pack, 400 Test)

в сочетании с буфером из Дополнительного набора реагентов.

- При установке новых бутылей пользователи должны переустанавливать счет инъекций буфера. (См. раздел 2, "LOT INFO на дисплее", в Руководстве по эксплуатации D-10).
- В систему необходимо вручную вводить информацию о партии буфера и раствора для промывки/разведения, а также о сроках их годности.
- При установке второй бутылки Буфера № 1 следует переустанавливать счет инъекций Буфера № 1.

Сертификация/отслеживаемость до эталонного материала и метода

Программа определения гемоглобина A_{1c} D-10 сертифицирована NGSP (Национальной программой по стандартизации гликогемоглобина (США)) как имеющая документально подтвержденную отслеживаемость до эталонного метода DCCT (Исследования контроля и осложнений сахарного диабета). Целью NGSP является стандартизация результатов анализов на гликогемоглобин таким образом, чтобы результаты клинических лабораторных анализов были сравнимы с результатами, о которых сообщается в исследовании DCCT, в котором было установлено соотношение среднего уровня глюкозы в крови с риском сосудистых осложнений.⁸

Для назначения величин IFCC (Международной Федерации Клинической Химии) вторичным эталонным материалам используется одобренный эталонный метод IFCC. Эти вторичные материалы используются для назначения величин калибраторам продукта и определения параметров калибрования продукта посредством использования основного уравнения IFCC/NGSP.⁹

Основное уравнение:

$$(NGSP A_{1c}) = 0,9148 (IFCC A_{1c}) + 2,152$$

$$(IFCC A_{1c}) = 1,093 (NGSP A_{1c}) - 2,350$$

Величины NSGP стандартизированы по отношению к исследованию DCCT с помощью сети NGSP и, таким образом, могут быть отслежены до клинических исходов.

Для преобразования условных единиц (% от общего гемоглобина) в единицы СИ (доля от общего гемоглобина), процент гемоглобина A_{1c} умножают на 0,01.

Требования контроля качества

В соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики, один раз в 24 часа в прогон следует включать диабетические и недиабетические контрольные пробы. В случае неполучения ожидаемых контрольных величин следует выполнить повторный прогон.

ИНСТРУКЦИИ В ОТНОШЕНИИ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ

L20012103 Инструкция

Для получения приемлемых результатов следует соблюдать следующие требования:

1. Система D-10 прошла калибрование. Для Ваших справок приемлемые диапазоны наклона и отсечения представлены во Вкладыше к набору калибраторов наборов определения гликозилированного гемоглобина A_{1c} .
2. Общая площадь каждого анализа должна варьировать в пределах диапазона от 1,0 до 4,0 миллиона $мкВ \cdot сек$.
Если площадь выходит за пределы этого диапазона, то результаты сообщать не следует.
3. Пики правильно идентифицированы. Для Ваших справок окна времени удерживания определяемого компонента указаны во Вкладыше к Аналитическому картриджу определения гемоглобина A_{1c} D-10.
4. Величины контроля качества не выходят за пределы установленного диапазона.
5. Диапазон сообщаемых результатов: диапазон сообщаемых уровней HbA_{1c} при использовании набора реагентов – от 3,8 до 18,5 %. Этот диапазон был установлен на основании данных, представленных в разделе “Рабочие характеристики”. В целом, эти данные показывают, что линейный диапазон применения набора реагентов составляет от 3,8 до 18,5 % HbA_{1c} . Если результат выходит за пределы диапазона сообщаемых уровней, то величина % гемоглобина A_{1c} снабжается звездочкой (*) и не должна сообщаться.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Разведение пробы

Нормальная концентрация общего гемоглобина соответствует общей площади, равной примерно 2,5 миллиона $мкВ \cdot сек$. Было осуществлено разведение проб цельной крови пациентов малого, среднего и большого объемов с получением общих площадей от 1,0 до 4,0 миллионов $мкВ \cdot сек$. Эти пробы прогоняли с использованием набора реагентов для определения гликозилированного гемоглобина, с целью подтверждения того, что общая площадь не влияет на результат. Рекомендуемый диапазон общих площадей составляет от 1,0 до 4,0 миллионов $мкВ \cdot сек$. Если площадь пробы выходит за пределы ожидаемого диапазона, то пробу следует предварительно разбавить вручную в соответствии с инструкциями, представленными в разделе “Подготовка пробы”.

Если площадь пробы снова оказывается за пределами ожидаемого диапазона, то пробу следует повторно развести таким образом, чтобы она оказалась в диапазоне общих площадей от 1,0 до 4,0 миллионов, и осуществить повторный прогон.

ПРИМЕЧАНИЕ: В некоторых случаях при высоких значениях общей площади и гемоглобина A_{1c} пробы (например, при гемоглобине A_{1c} равном 15% и общей площади, равной 4 М), пик гемоглобина A_{1c} может быть элюирован за пределы установленного окна удерживания. В этих случаях проба должна быть разведена до площади, равной примерно 2,5 М, с последующим осуществлением повторного прогона.

Аномальная продолжительность жизни эритроцита

Пробы пациентов с гемолитической анемией дают пониженные величины гликозилированного гемоглобина в связи с укороченной продолжительностью жизни эритроцита. Этот эффект зависит от тяжести анемии. Пробы пациентов с полицитемией или после перенесенной операции удаления селезенки могут давать повышенные уровни гликозилированного гемоглобина из-за несколько увеличенной продолжительности жизни эритроцитов.¹⁰

Варианты гемоглобина

Величины HbA_{1c} , полученные с помощью набора реагентов определения гемоглобина A_{1c} для проб крови пациентов с признаком HbS и больных диабетом с признаком HbC , не имели каких-либо клинически значимых отличий от величин, полученных с помощью боратного аффинного метода, сертифицированного NGSP. При исследовании образцов крови пациентов с признаком HbC , не страдающих диабетом, могут быть получены результаты ниже ожидаемого уровня. Типичные хроматограммы, получаемые у пациентов с признаком HbS и пациентов с признаком HbC , представлены на рис. 5 и 6. При редко встречающихся гомозиготных формах (SS или CC) HbA отсутствует; в связи с этим, какой-либо величины HbA_{1c} получить невозможно.

Пробы пациентов с прочими аномальными вариантами гемоглобина, включая HbG , HbH и гемоглобин Уэйна, с помощью использования набора реагентов определения гемоглобина A_{1c} не изучали. Для получения положительного подтверждения в отношении любого конкретного варианта гемоглобина требуются альтернативные методы разделения.

ОЖИДАЕМЫЙ ДИАПАЗОН ВЕЛИЧИН

Диапазоны гемоглобина A_{1c} ¹¹

С целью интерпретации результатов могут быть использованы диапазоны HbA_{1c}, указанные ниже; однако, при оценке степени контроля уровня глюкозы в крови следует также учитывать такие факторы как продолжительность сахарного диабета, соблюдение схемы терапии и возраст пациента. Приведенные величины неприменимы к беременным женщинам. Указание "Рекомендуется принятие мер" должно выполняться с учетом индивидуальных особенностей пациента. Такие меры могут включать в себя интенсивное обучение пациента методам самостоятельного лечения сахарного диабета, взаимопомощь больных сахарным диабетом при проведении лечения, направление к эндокринологу, изменение фармакотерапии, переход к более тщательному самостоятельному контролю уровня глюкозы в крови или учащение контактов с пациентом.

Гемоглобин A _{1c} (%)	Степень контроля уровня глюкозы
> 8	Рекомендуется принятие мер†
< 7	Целевой уровень‡
< 6	Недиабетический уровень

- † Высокий риск развития осложнений в отдаленном периоде - таких как ретинопатия, нефропатия, нейропатия и кардиопатия. Указание "Рекомендуется принятие мер" должно выполняться с учетом индивидуальных особенностей пациента.
- ‡ Присутствует некоторая опасность гипогликемической реакции у больных диабетом I типа. У некоторых лиц с отсутствием толерантности к глюкозе и больных "субклиническим" диабетом этот диапазон может соответствовать повышенному уровню HbA_{1c}.

Расчет среднего уровня глюкозы в плазме (СУГП)

Расчет среднего уровня глюкозы в плазме (СУГП) за последние 60 дней на основании величины HbA_{1c} дает возможность получить дополнительную клиническую информацию. На основании анализа полученных в исследовании DCCT ежеквартальных величин HbA_{1c} и соответствующих профилей глюкозы в капиллярной крови, построенных по семи точкам, была выведена линейная регрессия, используемая для расчета СУГП.¹²

Этот расчет не может быть осуществлен на основе величин менее специфических показателей (общего HbA₁ и общего гликозилированного гемоглобина), поскольку корреляция фракций HbA_{1a} и HbA_{1b} с длительным контролем уровня глюкозы очень сомнительна. Кроме того, известно, что негликозилированные аддукты, связанные с почечной недостаточностью, алкоголизмом, и т.д., увеличивают фракции HbA_{1a} и HbA_{1b}, приводя к завышению данных.¹³⁻¹⁵

Для расчета СУГП на основании величины HbA_{1c} следует использовать следующее уравнение линейной регрессии:

$$\text{Расчетная величина СУГП} = 35,6 (\% \text{HbA}_{1c}) - 77,3$$

HbA _{1c} (%)	Расчетная величина СУГП (мг/дЛ)
6,0	135
7,0*	170
9,0	240

* Целевой уровень, установленный Американской ассоциацией диабета (ADA).

Недиабетический (нормальный) диапазон

Недиабетические (нормальные) уровни должны устанавливаться каждой лабораторией исходя из характеристик исследуемой популяции.

В Третьем национальном исследовании здоровья и питания, проведенном в США, были исследованы 20 испытуемых в возрасте ≥ 20 лет с нормальным уровнем глюкозы в плазме натощак, не имевшие ранее диагностированного сахарного диабета. Величины HbA_{1c} определяли с помощью системы Био-Рад ДИАМАТ™.

Взвешенный средний уровень HbA_{1c} для пациентов с нормальным уровнем глюкозы в плазме натощак (n = 5694) составил 5,17 % (стандартное отклонение – 0,45 %). 95 % доверительный интервал (средняя ± 2 стандартных отклонения) составил от 4,27 % до 6,07 % HbA_{1c}.

Поскольку набор реагентов для определения гликозилированного гемоглобина сертифицирован NGSP, этот нормальный диапазон может быть использован в качестве эталона до тех пор, пока лабораторией не будет

проанализировано достаточное количество проб, позволяющее определить свои собственные нормальный и диабетический диапазоны, репрезентативные для местной исследуемой популяции.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность представления/воспроизведения

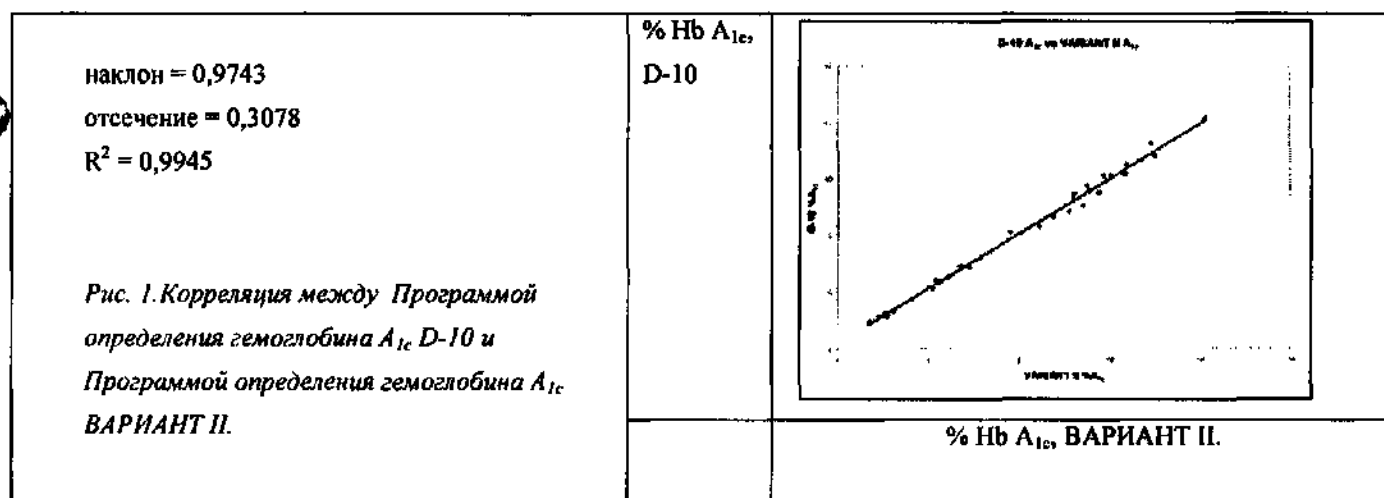
Точность представления/воспроизведения, обеспечиваемая набором реагентов, была оценена в одном исследовании, проведенном в соответствии с руководством NCCLS EP5-T2 "Оценка точности представления/воспроизведения, обеспечиваемой приборами, используемыми в клинической химии", адаптированным NGSP для применения в сертификации методов определения гликогемоглобина. В этом исследовании двумя анализаторами D-10 было выполнено 40 прогонов за 20 рабочих дней. При каждом прогоне осуществлялся двухкратный анализ аликвот нормальных и диабетических проб. Результаты данного исследования точности представления/воспроизведения приведены в таблице 1.

Точность как степень приближения к истинной величине

Таблица 1. Результаты исследования точности как степени приближения к истинной величине.

	Здоровый пациент	Больной сахарным диабетом
Средняя (% A _{1c})	6,0	10,3
В пределах прогона (вариационный коэффициент, %)	0,81	0,48
Между отдельными днями (вариационный коэффициент, %)	2,66	1,81
Между отдельными прогонами (вариационный коэффициент, %)	2,35	1,65
Общая точность как степень приближения к истинной величине (вариационный коэффициент, %)	3,64	2,49

Было осуществлено сравнение использования набора реагентов для определения гликозилированного гемоглобина: D-10, 400 (D-10 Reader Pack, 400 Test) и набора реагентов для определения гемоглобина A_{1c} в анализаторе ВАРИАНТ™ II. Одно сравнительное исследование было проведено на пробах 40 пациентов. См. рис. 1.



Линейность/Извлечение

Для демонстрации линейности измерений уровня HbA_{1c} с помощью набора реагентов для анализатора D-10 на протяжении всего сообщаемого диапазона, были получены следующие нормальный и диабетический образцы HbA_{1c} :

Нормальный: К пробе цельной крови здорового пациента добавляли стандарт 1-го уровня из Линейного набора стандартов для определения гемоглобина A_{1c} Липочек® компании Био-Рад, с получением относительного уровня HbA_{1c} , равного 3,8 %.

Диабетический: К пробе цельной крови больного диабетом добавляли стандарт 4-го уровня из Линейного набора стандартов для определения гемоглобина A_{1c} Липочек® компании Био-Рад, с получением относительного уровня HbA_{1c} , равного 18,5 %.

Диабетическую пробу разбавляли нормальной пробой в различных соотношениях с получением определенных относительных процентов HbA_{1c} (теоретических процентов HbA_{1c}). Эти разбавленные пробы анализировали с помощью набора реагентов для анализатора D-10 (получали наблюдаемые проценты HbA_{1c}). Процент извлечения определяли путем деления наблюдаемого процента HbA_{1c} на теоретический процент HbA_{1c} и умножения полученного результата на 100. Результаты исследования линейности представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты исследования линейности и извлечения.

% вклада		Теоретические проценты HbA_{1c}	Наблюдаемые проценты HbA_{1c}	Процент извлечения
Нормальный	Диабетический			
100	0	3,8	3,8	100
80	20	6,6	6,6	100
67	33	8,6	8,5	99
50	50	11,0	11,0	100
33	67	13,5	13,2	98
20	80	15,4	15,2	99
0	100	18,5	18,5	100

Вещества, создающие помехи

Лабильный A_{1c} – Для оценки уровня помех объединенные пробы пациентов с нормальными и диабетическими уровнями A_{1c} были разделены на аликвоты. К этим аликвотам добавляли исходный раствор глюкозы, и в результате получали концентрации глюкозы 200-700 мг/дЛ. Эти аликвоты инкубировали в течение трех часов, чтобы стимулировать образование лабильного A_{1c} . Полученные результаты (см. таблицу 3) показали, что уровни лабильного гемоглобина A_{1c} не превышающие 4 %, не оказывают клинически значимого влияния на количественное определение гемоглобина A_{1c} .

Таблица 3. Результаты исследования помех, создаваемых лабильным гемоглобином A_{1c} .

Здоровые испытуемые		Больные диабетом	
% лабильного гемоглобина A_{1c}	% гемоглобина A_{1c}	% лабильного гемоглобина A_{1c}	% гемоглобина A_{1c}
1,3	6,0	1,7	9,8
4,0	6,1	4,6	9,7

Липемические пробы – Были получены две объединенные пробы пациентов, представляющие нормальные и диабетические уровни гемоглобина A_{1c} . Эти пробы отцентрифугировали и из каждой пробы удалили плазму. Были получены пробы сыворотки с уровнями триглицеридов, варьировавшими в примерном диапазоне от 100 до 6000 мг/дЛ. Затем были приготовлены объединенные пробы сыворотки с концентрациями триглицеридов,

указанными в таблице 4. После этого аликвоты проб эритроцитов здоровых людей и больных диабетом соединяли с равными объемами объединенных проб сыворотки с известными концентрациями триглицеридов и проводили двухкратный анализ с помощью набора реагентов D-10. Полученные результаты показали, что триглицериды в концентрации до 5680 мг/дЛ не оказывают какого-либо клинически значимого воздействия на количественное определение гемоглобина A_{1c} .

Таблица 4. Результаты исследования липемических проб.

Уровни триглицеридов (мг/дЛ)	Процент гемоглобина A_{1c} у здоровых испытуемых	Процент гемоглобина A_{1c} у больных диабетом
101	5,1	9,4
1500	5,0	9,7
3000	5,0	9,7
4500	5,0	9,7
5680	5,0	9,6

Желтуха — С целью изучения воздействия желтухи на результаты определения процентов HbA_{1c} с помощью набора реагентов для анализатора D-10, к объединенным пробам цельной крови с нормальными и диабетическими уровнями гемоглобина A_{1c} добавляли исходный раствор конъюгированного билирубина в концентрации 0,1 мг/мЛ; в результате получали уровни конъюгированного билирубина в цельной крови в диапазоне от 0 до 20 мг/дЛ. Анализ проб с помощью набора реагентов для анализатора D-10 осуществляли двухкратно.

Результаты, представленные в таблице 5, показывают, что концентрации билирубина ≤ 20 мг/дЛ не создают помех для измерения процентов гемоглобина A_{1c} .

Таблица 5. Результаты исследования иктеричных проб.

Концентрация билирубина (мг/дЛ)	Процент гемоглобина A_{1c} у здоровых испытуемых	Процент гемоглобина A_{1c} у больных диабетом
0	5,9	10,2
20	5,9	10,2

Гемоглобин F (HbF) – Две объединенные пробы пациентов, представляющие нормальные и диабетические уровни гемоглобина A_{1c} , были разделены на аликвоты. Исследовали по одной аликвоте каждого уровня, содержащей добавленный очищенный гемоглобин F в количестве 5 и 10 %. Результаты, представленные в таблице 6, показывают, что уровни $HbF \leq 10$ % не оказывают клинически значимого воздействия на количественное определение гемоглобина A_{1c} .

Таблица 6. Результаты исследования помех, создаваемых гемоглобином F.

Добавленный гемоглобин F (%)	Процент гемоглобина A_{1c} у здоровых испытуемых	Процент гемоглобина A_{1c} у больных диабетом
0	5,1	8,5
5	5,1	8,6
10	5,3	8,7

Карбамилированный гемоглобин – Почечная недостаточность может приводить к повышению уровня карбамилированного гемоглобина, который элюируется совместно с лабильным HbA_{1c} . С целью оценки уровня

помех, создаваемых карбамелированным гемоглобином, объединенные пробы пациентов с нормальными и диабетическими уровнями гемоглобина A_{1c} были разделены на две аликвоты. По одной аликвоте каждого уровня инкубировали с 0,05 М раствором цианата калия до тех пор, пока уровень карбамелированного гемоглобина не повышался примерно на 2 %. Обе аликвоты каждого уровня анализировали с помощью набора реагентов для анализатора D-10 двукратно. Результаты, представленные в таблице 7, показывают, что уровни карбамелированного гемоглобина, не превышающие 2 %, не оказывают клинически значимого воздействия на количественное определение гемоглобина A_{1c} .

Таблица 7. Результаты исследования помех, создаваемых карбамелированным гемоглобином.

Здоровые испытуемые		Больные диабетом	
% карбамелированного гемоглобина	% гемоглобина A_{1c}	% карбамелированного гемоглобина	% гемоглобина A_{1c}
0,0	5,0	0,0	9,6
2,0	4,9	2,2	9,2

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Бюро-Рад

D-10

Серийный номер: DA2F002003

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 5

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 09/02/2004

ВРЕМЯ: 15:50

Версия программного обеспечения: 2.22-1

N

9/2/2004 в 15:50

Положение в штативе: 5

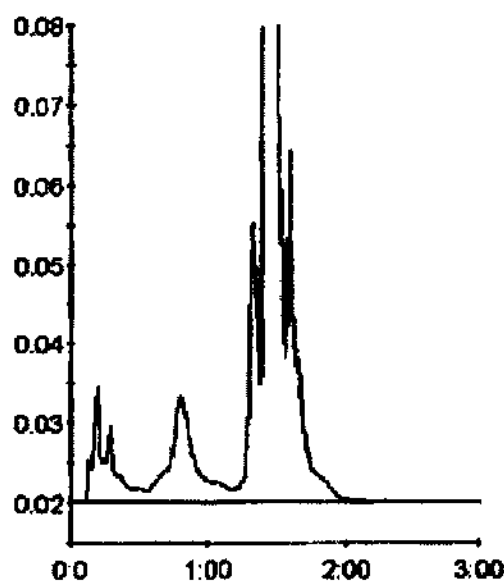


Таблица пиков – ID:N

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
A _{1a}	0,20	14532	60431	2,2
A _{1b}	0,29	9763	54490	2,0
LA _{1c} /CHb	0,67	3507	24455	0,9
A _{1c}	0,81	12564	129631	6,2
A0	1,43	616112	2504096	90,3

Общая площадь: 2773103

Концентрация:

% гемоглобина A_{1c} 6,2

Рис. 2. Недиабетическая (нормальная) проба.

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Био-Рад

D-10

Серийный номер: DA2F002003

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 6

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 09/02/2004

ВРЕМЯ: 15:53

Версия программного обеспечения: 2.22-1

D

9/2/2004 в 15:53

Положение в штативе: 6

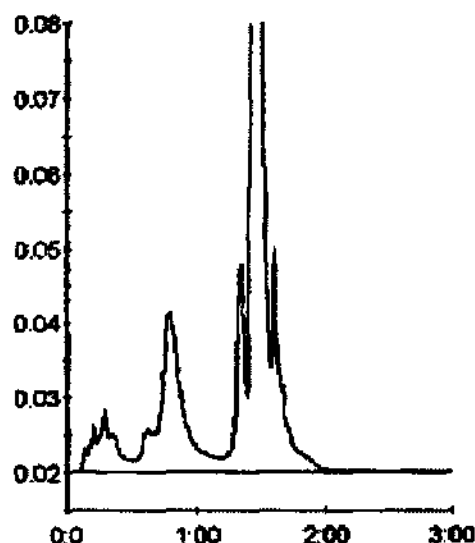


Таблица пиков – ID:D

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
Неизвестный	0,15	3126	8112	0,4
A _{1a}	0,21	6292	18144	0,9
A _{1b}	0,30	8420	31549	1,6
Неизвестный	0,36	5220	32851	1,7
LA _{1c} /CHb	0,64	5765	40261	2,1
A _{1c}	0,80	20705	211864	14,1
A0	1,44	401298	1604368	82,4
Общая площадь: 1946949				
Концентрация:				
% гемоглобина A _{1c} 14,1				

Рис.3. Диабетическая проба с повышенным уровнем гемоглобина A_{1c}.

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Био-Рад

D-10

Серийный номер: DA2L129106

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 4

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 15/02/2003

ВРЕМЯ: 00:51

Версия программного обеспечения: 2.19-1

HB_F

15/2/2003 в 00:51

Положение в штативе: 4

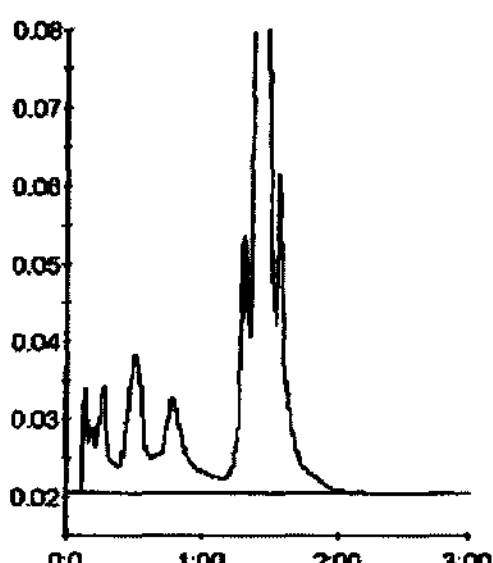


Таблица пиков – ID:HB_F

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
Неизвестный	0,14	13337	25513	0,9
A _{1a}	0,20	8175	25047	0,9
A _{1b}	0,28	13745	69190	2,4
F	0,52	17797	144519	5,0
A _{1c}	0,79	11234	120095	5,5
A0	1,41	618167	2528217	86,8

Общая площадь: 2912582

Концентрация:

% гемоглобина A_{1c} 5,5

Рис. 4. Проба пациента с повышенным уровнем гемоглобина F.

ФОРМА ОТЧЕТА ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОБЫ

Отчет о пациенте

Био-Рад

D-10

Серийный номер: DA2F002003

Идентификационный номер (ID) пробы:

Дата ввода пробы:

Номер ввода пробы: 10

Метод: HbA_{1c}

ДАТА: 09/02/2004

ВРЕМЯ: 16:05

Версия программного обеспечения: 2.22-1

АС

9/2/2004 в 16:05

Положение в штативе: 10

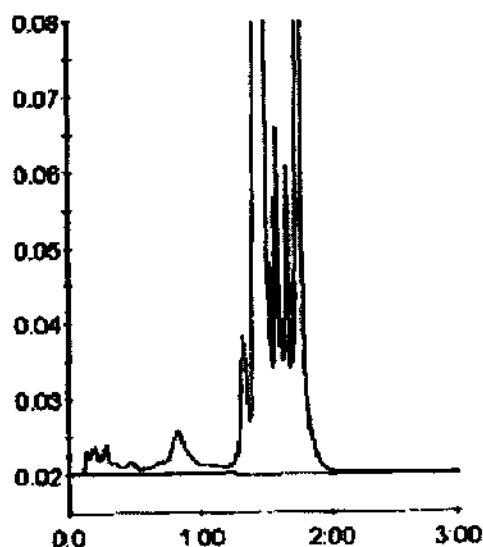


Таблица пиков – ID:АС

Пик	Реальное время	Высота	Площадь	Процент площади
Неизвестный	0,15	3057	7589	0,3
A _{1a}	0,21	3713	11329	0,5
A _{1b}	0,30	4130	19989	0,9
F	0,48	1549	10535	0,5
LA _{1c} /CHb	0,70	1592	11079	0,5
A _{1c}	0,84	5302	53894	4,8
A0	1,44	358382	1466715	64,4
C-окно	1,76	408051	695705	30,6
Общая площадь: 2276836				
Концентрация:				
% гемоглобина A _{1c} 4,8				

Рис. 6. Проба пациента с признаком гемоглобина C (АС).

ИНФОРМАЦИЯ О БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКТА

Праймеры и калибраторы 1 и 2 гемоглобина A_{1c}

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Эти продукты содержат химическое вещество, которое, как известно в штате Калифорния, вызывает дефекты развития или другие нарушения репродуктивной функции. Содержат <0,1 % гентамицина сульфата и <0,1 % тобрамицина.

ИНФОРМАЦИЯ О ТОРГОВОЙ МАРКЕ

Анализаторы D-10 и ВАРИАНТ II являются торговыми марками компании Био-Рад Лабораториз, Инк. Липочек – зарегистрированная торговая марка компании Био-Рад Лабораториз, Инк.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. American Diabetes Association Home Page. <http://www.diabetes.org> (accessed Jan 2003).
2. *Diabetes in the 1980's Challenges for the Future: Report of the National Diabetes Advisory Board*; NIH Publication No.82-2143; U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health: Washington, DC, 1982.
3. Forsham, P. H. Diabetes Mellitus: A Rational Plan for Management. *Postgrad. Med.* **1982**, *71*, 139-154.
4. Hollander, P. The Case for Tight Control in Diabetes. *Postgrad. Med.* **1984**, *75*, 80-87.
5. Baynes, J. W.; Bunn, H. F.; Goldstein, D.; Harris, M.; Martin, D. B.; Peterson, C.; Winterhalter, K. National Diabetes Data Group: Report of the Expert Committee on Glycosylated Hemoglobin. *Diabetes Care* **1984**, *7*, 602-606.
6. Nathan, D. M.; Singer, D. E.; Hurxthal, K.; Goodson, J. D. The Clinical Information Value of the Glycosylated Hemoglobin Assay. *N. Engl. J. Med.* **1984**, *310*, 341-346.
7. Mayer, T. K.; Freedman, Z. R. Protein Glycosylation in Diabetes Mellitus: A Review of Laboratory Measurements and of Their Clinical Utility. *Clin. Chim. Acta* **1983**, *127*, 147-184.
8. Rohlfing, C. L.; Little, R. R.; Wiedmeyer, H. M.; England, J. D.; Madsen, R.; Harris, M. I.; Flegal, K. M.; Eberhardt, M. S.; Goldstein, D. E. Use of GHb (HbA_{1c}) in Screening for Undiagnosed Diabetes in the U.S. Population. *Diabetes Care* **2000**, *23*, 187-191.
9. Procedure Manual - IFCC Network of Reference Laboratories for HbA_{1c}. Dr. Cas Weykamp, IFCC Network Coordinator, c.w.veykamp@skbwinterswijk.nl, website: www.ifcc-hba1c.com
10. Panzer, S.; Kronik, G.; Lechner, K.; Bettelheim, P.; Neumann, E.; Dudczak, R. Glycosylated Hemoglobins (GHb): An Index of Red Cell Survival. *Blood* **1982**, *59*, 1348-1350.
11. American Diabetes Association. Standards of Medical Care for Patients with Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* **2001**, *24* (Suppl. 1), 33-43.
12. Rohlfing, C. L.; Wiedmeyer, H. M.; Little, R. R.; England, J. D.; Tennill, A.; Goldstein, D. E. Defining the Relationship Between Plasma Glucose and HbA_{1c}. *Diabetes Care* **2002**, *25*, 275-278.
13. Little, R. R.; England, J. D.; Wiedmeyer, H. M.; Goldstein, D. E. Effects of Whole Blood Storage on Results for Glycosylated Hemoglobin as Measured by Ion-Exchange Chromatography, Affinity Chromatography, and Colorimetry. *Clin. Chem.* **1983**, *29*, 1113-1115.
14. Flückiger, R.; Harmon, W.; Meier, W.; Loo, S.; Gabbay, K. H. Hemoglobin Carbamylation in Uremia. *N. Engl. J. Med.* **1981**, *304*, 823-827.
15. Hoberman, H. D.; Chiodo, S. M. Elevation of the Hemoglobin A₁ Fraction in Alcoholism. *Alcohol: Clin. Exp. Res.* **1982**, *6*, 260-266.

L20012103 Инструкция

ПРИМЕЧАНИЯ:

Контакты с целью получения технической информации

Для оказания технической помощи компанией Био-рад выделена бесплатная круглосуточная телефонная линия, доступная в течение 7 дней в неделю. Бесплатный телефонный номер, доступный для использования в Соединенных Штатах Америки и Пуэрто-Рико - 1-800-2BIORAD (224-6723).

За пределами США за помощью следует обращаться в региональный офис компании Био-рад.

Дата вступления в силу: декабрь 2004 г.

L20012103 Инструкция

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 42 (ср. 100) листов
Генеральный директор
ООО «Био-Рад Лаборатории»