

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ № _____

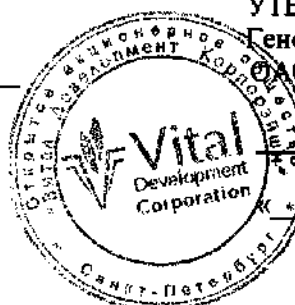
УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н.Схолль-Энгбертс

2011 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации гликозилированного гемоглобина (HbA1c) в цельной крови иммунотурбидиметрическим методом

(Гликозилированный гемоглобин - Витал)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов Гликозилированный гемоглобин - Витал предназначен для количественного определения процентного содержания гликозилированного гемоглобина (HbA1c) в цельной крови человека иммунотурбидиметрическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Определение содержания HbA1c в цельной крови человека имеет важное значение для ранней диагностики сахарного диабета, для длительного контроля за состоянием больных диабетом, т.к. уровень HbA1c отражает среднюю концентрацию глюкозы в крови на протяжении предшествующих 4-8 недель, а также для контроля за эффективностью проводимого лечения. Высокий уровень HbA1c свидетельствует о недостаточной коррекции содержания глюкозы в крови. Содержание HbA1c обычно выражают в процентах от общей концентрации гемоглобина.

Набор рассчитан для проведения 80 определений при расходе 350 мкл реагента 1 и 125 мкл рабочего реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Для определения концентрации гликозилированного гемоглобина использован метод иммунотурбидиметрического анализа. Гемоглобин и гликозилированный гемоглобин (HbA1c) одинаково адсорбируются на поверхности частиц латекса. При взаимодействии поликлональных козьих антител к иммуноглобулину G мыши с комплексом, образованным моноклональными мышинными антителами к HbA1c и молекулами HbA1c, адсорбированными на частицах латекса, возникает агглютинация, степень которой пропорциональна количеству молекул HbA1c. Агглютинация увеличивает оптическую плотность исследуемой пробы, которая регистрируется фотометрически при длине волны 670(580-690) нм. Величину содержания HbA1c в анализируемых пробах (в %) определяют по калибровочному графику.

2.2. Состав набора:

- реагент 1: латекс {глициновый буфер [глицин, натрия гидроокись, кислота соляная; 20 ммоль/л], pH 7,8; латекс полимерный, 0,13%; натрия азид, 0,95 г/л}, готов к использованию - 4 флакона (по 7,5 мл);

- реагент 2: буфер {глициновый буфер [глицин, натрия гидроокись, кислота соляная; 80 ммоль/л], pH 7,8; натрия азид, 0,95 г/л} - 1 флакон (9,5 мл);

- реагент 3: антитела [натрия хлорид, 154 ммоль/л; антитела моноклональные мышинные к гликозилированному гемоглобину человека, 50 мг/л; антитела поликлональные козы к иммуноглобулину G мыши, 0,8 мг/л; натрия азид, 0,95 г/л] - 1 флакон (0,5 мл);
- реагент 4: гемолизирующий реагент (натрия азид, 0,95 г/л), готов к использованию - 1 флакон (200 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации HbA1c – в диапазоне от 4 до 12%, отклонение от «линейности» - не более 10 %.

Чувствительность определения – не более 3%.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 8 %.

Карбомилированный гемоглобин в концентрации до 7,5 ммоль/л, ацетилованный гемоглобин в концентрации до 5 ммоль/л, билирубин в концентрации до 855 мкмоль/л и триглицериды в концентрации до 22,8 ммоль/л не мешают определению содержания HbA1c иммунотурбидиметрическим методом.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины концентрации HbA1c в цельной крови у здоровых людей составляют менее 6%. Контролируемый уровень глюкозы в крови у больных диабетом - при содержании HbA1c в цельной крови от 6 до 7%. Неконтролируемый уровень глюкозы в крови у больных диабетом - при содержании HbA1c в цельной крови более 8%.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин содержания HbA1c в цельной крови для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Реагенты содержат токсичный компонент - натрия азид. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. В случае из попадания на кожу и слизистые следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г).

При работе с набором необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. кровь человека является потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- спектрофотометр, длина волны 670 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм или автоматический (полуавтоматический) биохимический анализатор открытого типа, длина волны 670 (580-690) нм;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные, со сменными наконечниками, позволяющие отмерять объемы жидкости 5-40 мкл, 5-200 мкл и 200-1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3,0-5,0 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые;
- масштабная-координатная бумага;
- набор калибраторов «Гликозилированный гемоглобин-Калибратор-Витал» (4 уровня).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая цельная кровь человека, антикоагулянт – ЭДТА.

Образцы цельной крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 48 ч; не замораживать.

7. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и исследуемые образцы цельной крови выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение времени не менее 30 мин.

Реагент 1 и реагент 4 готовы к использованию. Непосредственно перед использованием реагент 1 следует перемешать!

Приготовление рабочего реагента.

Содержимое флакона с реагентом 3 количественно перенести во флакон с реагентом 2 и аккуратно перемешать, избегая вспенивания.

Приготовленный рабочий реагент можно хранить при температуре 2-8°C не более 1 мес.

Построение калибровочного графика.

Калибраторы, входящие в состав набора «Гликозилированный гемоглобин-Калибратор-Витал», приготовить (растворить) в соответствии с инструкцией по использованию этого набора.

Подготовить 5 пробирок вместимостью 3,0 мл. Внести в каждую пробирку по 1,0 мл реагента 4. Добавить в соответствующую пробирку по 20 мкл соответствующего калибратора из наборов калибраторов (4 уровня), в пятую пробирку добавить 20 мкл физиологического раствора (нулевая точка калибровки). Тщательно перемешать содержимое пробирок и инкубировать при температуре 18-25°C в течение времени не менее 5 мин до полного завершения гемолиза (гемолизат).

Приготовить 5 пробирок вместимостью 3,0 мл, внести в каждую пробирку по 350 мкл предварительно перемешанного реагента 1, добавить в соответствующую пробирку по 10 мкл полученного гемолизата, пробы тщательно перемешать и инкубировать при температуре 37°C в течение 5 мин (точно!). Добавить в каждую пробирку по 125 мкл рабочего реагента, тщательно перемешать, инкубировать при температуре 37°C в течение 5 мин (точно!), перемешать и измерить оптическую плотность калибровочных проб против нулевой точки калибровки при длине волны 670 (580-690) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Построить на масштабной-координатной бумаге калибровочный график в полулогарифмических координатах, откладывая на оси абсцисс (логарифмическая) значения содержания гликозилированного гемоглобина в калибраторах, а на оси ординат (линейная) – значения соответствующих величин оптических плотностей калибраторов.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Приготовить необходимое количество пробирок вместимостью 3,0 мл для анализируемых проб и одну пробирку вместимостью 3,0 мл для контрольной (холостой) пробы.

Во все пробирки внести по 1,0 мл реагента 4. В пробирки для опытных проб добавить по 20 мкл анализируемых образцов цельной крови человека, содержащих HbA_{1c}, в пробирку для контрольной (холостой) пробы – 20 мкл физиологического раствора. Тщательно перемешать содержимое пробирок и инкубировать при температуре 18-25°C в течение времени не менее 5 мин до полного завершения гемолиза (гемолизат).

Приготовить необходимое количество (по числу анализируемых проб) пробирок вместимостью 3,0 мл для опытных проб и 1 пробирку вместимостью 3,0 мл для контрольной (холостой) пробы. Внести в каждую пробирку по 350 мкл предварительно перемешанного реагента 1, добавить в каждую пробирку для опытных проб по 10 мкл гемолизата, полученного из опытных проб и контрольной (холостой) пробы, тщательно перемешать и инкубировать при температуре 37°C в течение 5 мин (точно!). Добавить в каждую пробирку по 125 мкл рабочего реагента, тщательно перемешать, инкубировать при температуре 37°C в течение 5 мин (точно!), перемешать и измерить оптическую плотность опытных проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 670 (580-690) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

По калибровочному графику определить концентрацию HbA1c в анализируемых пробах цельной крови человека (в %).

При проведении анализа на биохимическом анализаторе прибор построит калибровочный график и определит концентрацию HbA1c в анализируемых пробах (гемолизатах) автоматически.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 5 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 1 год.

Реагент 1 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в темном месте в плотно закрытом виде не более 1 мес.

Реагент 1 непосредственно перед использованием следует перемешать.

Реагент 4 после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при температуре 18-25°C в плотно закрытом виде в течение всего срока годности.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2-8°C в плотно закрытом виде не более 1 мес.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

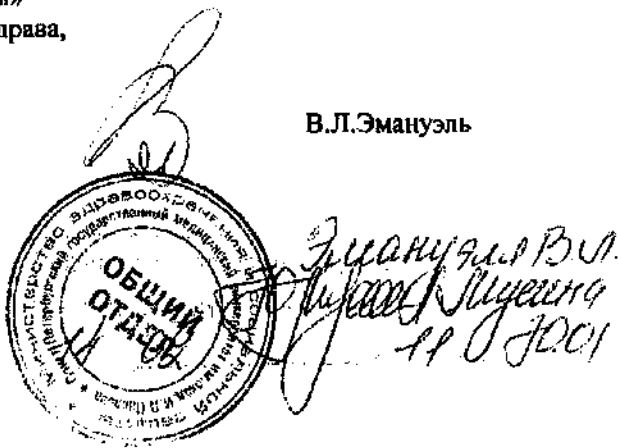
Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины,
директор НЦ «Институт лабораторной медицины»
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова Росздрава,
Главный специалист -эксперт
по клин. лаб. диагностике Росздрав надзора
по СЗФО, д. м. н., профессор

В.Л.Эмануэль



Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 4 листа
Ген. директор
Схолль-Энгбертс Е.Н.

