



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 20 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор ООО «Хоспитекс Диагностикс»



ИНСТРУКЦИЯ

по применению реагента для определения концентрации гликированного гемоглобина HbA1c

ПРИНЦИП МЕТОДА

Для быстрого отделения HbA1c от всех других фракций гемоглобинов используется слабосвязанная катионообменная смола. Приготовленный гемолизат цельной крови непрерывно перемешивают в течение 5 минут со слабосвязанной катионообменной смолой. В течение этого времени HbA0 и все другие фракции гемоглобинов, кроме HbA1c, связываются со смолой. Фракция HbA1c остается в растворе. После процедуры перемешивания необходимо отделить супернатант, содержащий фракцию HbA1c, от смолы с помощью фильтра. Процент гликированного гемоглобина определяют из соотношения измеренной абсорбции при 415 нм фракции HbA1c к общему гемоглобину. Соотношение двух измеренных абсорбций дает процент HbA1c в образце.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент R1: Лизирующий реагент (2х12,5 мл, 1х12,5 мл)
Цианид калия..... 10 ммоль/л
ПАВ
Реагент R2: Калибратор
Лиофилизированный HbA1c..... 10%
Пробирки с ионообменной смолой (50х2 мл, 25х2 мл)
Катионообменная смола 8 мг/мл в буфере pH 6,9, суспендированная в пробирке, готовая к использованию
Фильтры-сепараторы (50 шт, 25 шт)

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейную область определения концентрации гликированного гемоглобина HbA1c в диапазоне от 4 до 20 %, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность не более 4 %, коэффициент вариации результатов определения – не более 5%. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным материалам, аттестованным данным методом. 6,0-8,6 %
Этот диапазон представляет 95%-ый доверительный интервал для 100 амбулаторных пациентов с нормальным уровнем глюкозы и без диагноза диабет. Исследование 31 пациента с диабетом показало интервал концентрации HbA1c от 8.4 % до 16.0 %. Для популяции людей, больных диабетом, сравнение уровня глюкозы в плазме крови, взятой натощак, с уровнем HbA1c дало коэффициент корреляции, равный 0.84.
Каждой лаборатории рекомендуется установить свой диапазон нормальных значений.

ОБРАЗЦЫ

Специальная подготовка пациента не требуется. Сбор образцов натощак не требуется. Никакие специальные добавки или консерванты кроме антикоагулянтов не требуются. Соберите венозную кровь с ЭДТА. HbA1c в целой крови, собранной с ЭДТА, устойчив в течение одной недели при 2 – 8 °C. Избегайте использования образцов с липимией.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

В реагенте содержится вредный компонент – цианид калия. При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу или слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. Не пипетировать ртом; при проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.
При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- спектрофотометр или фотоэлектроколориметр, длина волны 415 нм (390 – 420 нм), кювета с длиной оптического пути 1 см;
- качалка или ротатор;
- секундомер;
- пипетка с переменным объемом
- вода дистиллированная;

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Реагенты R1 и ионообменная смола готовы к использованию.
Реагент R2 калибратор HbA1c: добавить 1 мл деионизированной воды во флакон, ждать 30 мин, перемешивать аккуратно переворачивая

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Доведите реагенты до рабочей температуры перед использованием.
Приготовление гемолизата
1. Дозируйте 500 мкл лизирующего реагента (Реагент R1) в помеченные пробирки: Стандарт, Контроль, образец 1 и т.д.
2. Добавьте 100 мкл хорошо перемешанного образца крови, стандарта, контроля в соответствующую пробирку. Хорошо перемешайте.
3. Оставьте стоять в течение 5 минут.
Приготовление гликогемоглобина
1. Добавьте 70 мкл гемолизата в пробирку со смолой (ПС).
2. Поместите фильтр-сепаратор в пробирку таким образом, чтобы резиновый рукав был приблизительно на 1 см выше уровня жидкости.



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

- Поместите пробирки на качалку или ротатор и перемешивайте 5 минут.
- Снимите пробирки с качалки или ротатора.
- Опустите фильтр-сепаратор в пробирку до образования твердого осадка.

Шаг 1



Шаг 1



Шаг 5



- Перенесите супернатант в другую пробирку или сразу в измерительную кювету.
- Установите на приборе длину волны 415 нм и ноль, используя дистиллированную воду в качестве бланка (диапазон длин волн 390-420 нм).
- Измерьте абсорбцию для стандарта, контроля и образцов. Измеренная абсорбция соответствует гликированному гемоглобину HbA1c.

Фракция общего гемоглобина

- Дозируйте по 5 мл деионизированной воды в помеченные пробирки: Стандарт, Контроль, образец 1 и т.д.
- Внесите 20 мкл гемолизата в соответствующую пробирку.
- Установите на приборе длину волны 415 нм и ноль, используя дистиллированную воду в качестве бланка.

Измерьте абсорбцию для стандарта, контроля и образцов. Измеренная абсорбция соответствует общему гемоглобину.

Концентрацию гликированного гемоглобина определить, как описано ниже:

$$\%HbA1c(пробы) = \frac{R(пробы)}{R(стандарта)} \times \text{Концентрация стандарта}$$

РАСЧЕТ

$$\begin{aligned} \text{Отношение (Rпробы)} &= \frac{A_{HbA1c(пробы)}}{A_{Hb\text{ общ.}(пробы)}} \\ \text{Отношение (Rстандарта)} &= \frac{A_{HbA1c(стандарта)}}{A_{Hb\text{ общ.}(стандарта)}} \end{aligned}$$

Пример:

Стандарт, имеющий 8.0% HbA1c имеет A=0,480 для HbA1c и A=0,575 для Hбообщ. Образец имеет для HbA1c A=0,962 и для Hбообщ. A=0,746. Концентрация гликированного гемоглобина рассчитывается следующим образом:

$$R(пробы) = 0,962 / 0,746 = 1,289$$

$$R(стандарта) = 0,480 / 0,575 = 0,835$$

$$\%HbA1c(пробы) = (1,289 / 0,835) \times 8,0 = 12,4$$

Хранение наборов должно производиться при температуре + 2 – 8 °C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагент после вскрытия должен храниться при температуре + 2 – 8 °C в течение всего срока годности при условии достаточной герметичности. Не допускайте контаминации.

Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдать инструкцию по применению набора.

По всем вопросам, касающимся набора, следует обращаться в ООО «Хоспитекс Диагностика» по адресу: 121552, г. Москва, а/я 43, тел/факс (495) 646-0505

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Начальник производства

Главный врач ФГУ «РКНПК Минздравсоцразвития России»



А.А.Борисова

В.К.Ситина