

КОД. 11735 1 x 70 мл
ХРАНИТЬ ПРИ 2-8°C
Реагенты для измерения уровня гемоглобина A1c Только для использования <i>in vitro</i> в клинической лаборатории

HEMOGLOBIN A1c-ENZYMATIC (HbA1c-ENZ)



ГЕМОГЛОБИН A1c-ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ (HbA1c-ФЕРМ.) ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ

ПРИНЦИП МЕТОДА

После подготовки гемолизата концентрация гемоглобина A1c (HbA1c) определяется методом ферментного анализа. Образец подвергается глубокой ферментации с протеиназой, которая высвобождает гликированные валены из бета-цепей гемоглобина. Они служат в качестве субстрата для фермента фруктозил-валиноксидазы, который расщепляет N-терминальные валены и производит перекись водорода, которая затем измеряется посредством каталитической реакции с пероксидазой хрена и хромогеном.

СОДЕРЖАНИЕ И СОСТАВ

- A. Реагент: 1 x 60 мл. Буфер CHES 100 ммоль/л, окислительно-восстановительные агенты, pH 8.7.
 B. Реагент: 1 x 3 мл. Окислительно-восстановительные агенты, pH 7.0.
 C1. Реагент: 1 x 35 мл. Буфер MES 5 ммоль/л, протеиназа, pH 7.0.
 C2. Реагент: 1 x 15 мл. Буфер MES 1 ммоль/л, окислительно-восстановительные агенты, pH 6.3.
 D. Реагент: 1 x 20 мл. Трис-буфер 15 ммоль/л, фруктозил-валиноксидаза, пероксидаза, хромоген, pH 8.0.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Хранить при 2-8°C.

Реактивы сохраняют стабильность до истечения срока годности, указанного на этикетке при условии герметичности упаковок и отсутствия загрязнения во время использования.

Признаки негодности: присутствие посторонних частиц, мутность.

ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ

- S. Стандартный ферментативный HbA1c (BioSystems, код. 11733). Человеческая кровь. Концентрация HbA1c указана на маркировке пробирки. Концентрация HbA1c является прослеживаемой по стандартизированному эталонному методу, описанному Международной федерацией клинической химии (IFCC)¹.

Человеческая кровь, использованная для подготовки эталона, была протестирована. Антител к ВИЧ и вирусу гепатита С, а также антител к гепатиту В в крови обнаружено не было. Тем не менее обращаться с эталоном следует осторожно, как с потенциально зараженным.

Восстановите лиофилизированную кровь с использованием 0.5 мл дистиллированной воды. Она остается стабильной в течение 14 суток при 2-8°C.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Реагенты A, B и D поставляются готовыми к использованию.

Реагент С: перелите содержимое сосуда с Реагентом C2 в сосуд с Реагентом C1. Тщательно смешайте и оставьте на ночь. Меньшие объемы Реагента С можно подготовить путем смешивания: 7 мл Реагента C1 + 3 мл Реагента C2. Он остается стабильным в течение 30 суток при 2-8 °C.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Баня-термостат с температурой 37°C.
- Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостазируемым штативом с температурой 37°C, способный детектировать 700 нм.

ОБРАЗЦЫ

Венозная кровь, забранная стандартным методом с использованием ЭДТК в качестве антикоагулянта. HbA1c в крови остается стабильным в течение 7 суток при 2-8°C.

ОПОРНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Следующие граничные точки были установлены Исследовательской группой по контролю диабета и его осложнений (DCCT) и были приняты во многих странах для референтных групп населения (не страдающих диабетом), а также для оценки уровня глюкозы в крови у пациентов с диабетом^{2,3}.

IFCC (ммоль/моль)	NGSP-DCCT (%)	Опорные значения/степень контроля
20 - 48	4.0 - 6.5	Не диабетичи
42 - 53	6.0 - 7.0	Цель
53 - 64	7.0 - 8.0	Надлежащий контроль
> 64	> 8.0	Рекомендуемое действие

КАЛИБРОВКА

Калибровочная кривая: рассчитайте разницу коэффициентов поглощения ($\Delta A_{\text{эталона}} - \Delta A_{\text{холостой пробы}}$) в каждой точке калибровочной кривой и постройте зависимость полученных значений от концентрации HbA1c. Концентрация HbA1c в образце рассчитывается по интерполяции разницы ее коэффициентов поглощения ($\Delta A_{\text{образца}} - \Delta A_{\text{холостой пробы}}$) на калибровочной кривой.

Холостые пробы по реагенту рекомендуется проводить каждый день, а калибровку как минимум каждую неделю после смены набора реагентов или как того требует порядок действий по контролю качества.

Проводите холостые пробы по Реагенту B.

ПОРЯДОК ДЕЙСТВИЙ

Подготовка гемолизата

С калибраторами следует обращаться так же, как с образцами пациентов.

- Отберите пипеткой в тестовую пробирку:

Кровь	20 μ л
Реагенту A	250 μ л

- Аккуратно перемешайте. Не допускайте образования пены. Выдерживайте в течение 10 минут при комнатной температуре.

Гемолизат стабилен в течение 4 часов при 15-25°C.

Анализ (Примечание 1)

- Довести реактивы и инструмент до 37°C.
- Перенести пипеткой в кювету:

Реагенту C	640 μ л
Холостая проба (Реагент B), Эталон или Образец	100 μ л

- Перемешайте и вставьте кювету в инструмент. Запустите секундомер и через 5 минут считайте значение коэффициента поглощения при 700 нм (A_{700}).
- Пипеткой перенесите в кювету:

Реагенту D	280 μ л
------------	-------------

- Перемешайте и через 3 минуты считайте значение коэффициента поглощения при 700 нм (A_2).
- Рассчитайте разницу коэффициентов поглощения, $\Delta A = A_2 - A_1$.

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Полученные значения концентрации являются прослеживаемыми по эталонному методу IFCC. Дополнительные вычисления не требуются.

Прослеживаемые значения по эталонному методу, описанному Национальной программой по стандартизации гликогемоглобина США (NGSP), рассчитываются по следующей общей формуле⁴.

$$\text{HbA1c-NGSP-DCCT (\%)} = 0.0915 \times \text{HbA1c-IFCC (ммоль/моль)} + 2.15$$

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать систему Hemoglobin A1c Control Elevated (код. 18002) для подтверждения выполнения процедуры измерения.

Каждая лаборатория должна устанавливать собственную внутреннюю схему контроля качества и процедуры корректирующих действий, если контрольные образцы не восстанавливаются в пределах допустимых отклонений.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Метрологические характеристики были получены с помощью анализатора. Результаты могут меняться, если используются другие приборы или ручной анализ.

- Предел обнаружения: 2 ммоль / моль = 0.2 %.
- Предел линейности: 108 ммоль / моль = 12 %. Образцы со значениями более 12 % не должны разбавляться и повторно тестироваться. Значения должны быть представлены как превышающие 12 %.
- Повторяемость (в пределах одного опыта):

	KB	n
40 ммоль / моль	3.2 %	80
82 ммоль / моль	2.2 %	80

- Воспроизводимость (между опытами):

	KB	n
40 ммоль / моль	4.5 %	20
82 ммоль / моль	3.3 %	20

- Подлинность: результаты, полученные с использованием этого реагента, не показывают систематических расхождений при сопоставлении с эталонным методом, описанным IFCC, и эталонным методом, описанным NGSP. Подробная информация о сравнительных экспериментах предоставляется по запросу.

- Интерференции: Липемия (триглицериды 4.000 мг/дл) и билирубин (15 мг/дл) не создают интерференции. Другие препараты и вещества могут создавать интерференции⁵. Ацетилованный, карбамиллированный и нестабильный HbA1c не влияет на ферментативную реакцию, использованную в данном анализе. Варианты гемоглобина HbS, HbC и HbE не создают интерференции. Повышенные концентрации гемоглобина HbF (> 10 %) могут повлиять на значения HbA1c^{6,7}.

При гемолитической анемии, железодефицитной анемии и трансфузии средний возраст эритроцитов изменяется. При интерпретации результатов HbA1c у пациентов с этими заболеваниями следует проявлять повышенную внимательность.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Гемоглобин A1c представляет собой продукт необратимой конденсации глюкозы с N-концевым остатком β -цепи гемоглобина A.

Концентрация HbA1c в крови прямо пропорциональна средней концентрации глюкозы в течение 6-8 недель, что соответствует средней жизни эритроцитов², и предполагаемое среднее значение глюкозы (eAG) может быть рассчитано по следующим формулам⁸:

$$eAG \text{ (мг/дл)} = 28.7 \times \text{HbA1c-NGSP-DCCT (\%)} - 46.7$$

$$eAG \text{ (ммоль/л)} = 1.59 \times \text{HbA1c-NGSP-DCCT (\%)} - 2.59$$

$$eAG \text{ (мг/дл)} = 2.64 \times \text{HbA1c-IFCC (ммоль/моль)} + 15.0$$

$$eAG \text{ (ммоль/л)} = 0.146 \times \text{HbA1c-IFCC (ммоль/моль)} + 0.843$$

Определение уровня HbA1c является ценным дополнением к определению глюкозы в крови при оценке контроля гликемии для наблюдения за больными диабетом, что дает более достоверную информацию, чем концентрация глюкозы. Существуют исследования, которые указывают, что количество осложнений, связанных с диабетом, может быть снижено вследствие строгого контроля содержания глюкозы в крови. Измерение концентрации HbA1c также может служить в диагностике диабета⁹.

Клинический диагноз не должен быть поставлен только на основании одного теста и должен включать клинические и лабораторные данные.

ПРИМЕЧАНИЯ

- Эти реактивы можно использовать в некоторых автоматических анализаторах. За подробной информацией обращайтесь к вашему торговому представительству.

БИБЛИОГРАФИЯ

- Jeppson JO, Kodold U, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umamoto M, Weykamp C. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1C in human blood. Clin Chem Lab Med 2002;40:78-89.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1993; 329: 977-986.
- Hoelzel W et al. IFCC reference systems for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan and Sweden: a method-comparison study. Clin Chem 2004;50:166-174
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Bry L, Chen P, Sacks D. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. Clin Chem 2001;47:153-163.
- Roberts WL, De BK, Brown D, Hanbury MC, Hoyer JD, John WG, Lambert TL, Lundell RB, Rohlfing C, Little RR. Effects of hemoglobin C and S traits on eight glycohemoglobin methods. Clin Chem 2002;48:383-385.
- Nathan DM, et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. Diabetes Care 2008; 31: 1473-1478.
- Nathan DM, et al. International Expert Committee report on the role of the HbA1C assay in the diagnosis of diabetes. Diabetes care 2009; 32: 1327-1334.

