



Инструкция и адаптационная методика по применению набора «Гликированный гемоглобин»

Клиническое значение:

HbA1c образуется в результате неферментативного гликолиза свободных аминокрупп на N-концах β-цепи гемоглобина A0. Глюкоза связана с гемоглобином в эритроцитах в течение всего их жизненного цикла, поэтому уровень HbA1c пропорционален содержанию глюкозы в крови и является показателем среднесуточной концентрации глюкозы в крови за два предшествующих месяца. Поэтому определение HbA1c считается важным диагностическим инструментом в мониторинге диетического контроля и лечения у больных диабетом.

Диагноз не должен ставиться на основании одного теста. Необходимо учитывать результаты других исследований и клиническую картину.

Принцип метода:

Это прямой метод определения гликированного гемоглобина HbA1c. Агглютинация наблюдается, когда образуется комплекс между находящимися в реагенте латексными частицами, мышинными моноклональными античеловеческими-HbA1c-антителами, козьими антимышными IgG поликлональными антителами и HbA1c, находящимся в образце. Степень агглютинации зависит от концентрации гликированного гемоглобина в образце и вызывает пропорциональное изменение оптической плотности. Концентрация гликированного гемоглобина в образце определяется фотометрически относительно калибровочной кривой.

Набор предназначен для использования на ручных, полуавтоматических и автоматических биохимических анализаторах.

Со став набора*:

Реагент 1	Реагент 2	Реагент 3	Калибратор (до 4 уровней) / контроль (до 2 уровней) гликированного гемоглобина
TRIS-буфер Латексные частицы	TRIS-буфер, мышинные моноклональные античеловеческие-HbA1c-антитела, козьи антимышнные IgG поликлональные антитела	Гемолизирующий реагент	Лиофилизированная кровь человека. Концентрация гликированного гемоглобина в калибраторе / контроле указана на этикетке.
24 мл	8 мл	90 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика
36 мл	12 мл	100 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика
72 мл	24 мл	250 мл	наличие и объем в наборе по желанию заказчика

* - объем реагентов во флаконе и количество флаконов может варьироваться в зависимости от каталожного номера.

По желанию заказчика набор может поставляться без калибровочного и контрольного материала.

Подготовка реагентов к применению и их стабильность:

Запечатанные флаконы стабильны до окончания срока годности при хранении при 2-8°C.

Реагент 1, Реагент 2 и Реагент 3 готовы к применению. После вскрытия флаконов реагенты стабильны при температуре от 2°C до 8°C в течение одного месяца. Перед применением аккуратно перемешать до однородного состояния.

Для приготовления Калибраторов гликированного гемоглобина и Контролей гликированного гемоглобина необходимо добавить в каждый флакон по 0,5 мл деионизированной воды. Аккуратно перемешивать до полного растворения в течение 10 минут. Стабильность Калибраторов и контролей гликированного гемоглобина – 1 месяц при температуре от 2°C до 8°C. Не допускать воздействия прямого солнечного света. Не замораживать!

Признаки непригодности реагентов для применения:

- непрохождение контроля качества.

Меры предосторожности:

Реагенты, входящие в состав набора, предназначены только для диагностики *in vitro*. **Не принимать внутрь.**

Калибратор и контроль гликированного гемоглобина представляет собой лиофилизированную кровь человека, которая проверена на отсутствие HBsAg, HCV, антител к ВИЧ (1/2). Однако при работе с ними необходимо обращаться как с потенциально опасными веществами.

Все компоненты в используемых концентрациях не токсичны. При работе с наборами реагентов следует применять средства индивидуальной защиты согласно ГОСТ 12.4.103. Допускаются к применению перчатки медицинские одноразовые и халаты медицинские, отвечающие действующим ТНПА Республики Беларусь и имеющие документы, подтверждающие качество и безопасность в области применения.

При работе с наборами следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СНИП «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 2 от 6 января 2017 г.

Утилизация не использованных либо с истекшим сроком годности реагентов проходит в соответствии с СНИП «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь №14 от 7 февраля 2018 г.

Образцы, их стабильность и подготовка к анализу:

Цельную венозную кровь собирают в пробирку с ЭДТА, соблюдая асептические условия. Образцы стабильны 7 дней при температуре от 2°C до 8°C.

Для анализа образец гемолизируют следующим образом:

1. Пластиковые или стеклянные пробирки подписать: калибратор, контроль, пациент и т.д.
2. **В каждую пробирку внести по 0,50 мл Реагента 3.**
3. **0,010 мл хорошо перемешанного образца внести в соответствующую ему подписанную пробирку с Реагентом 3. Перемешать.**
4. Оставить пробирки на 5 минут или до визуально заметного гемолиза.

Гемолизованный образец стабилен 10 дней при температуре от 2°C до 8°C. **Контроли и калибраторы должны быть гемолизированы перед анализом, как и образец.**

Объем пробы и Реагента 3 можно пропорционально уменьшать или увеличивать.

Методика для ручных и полуавтоматических анализаторов.

Необходимое, но не предоставляемое оборудование:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 660 нм и длиной оптического пути 1 см, с термостатируемым кюветным отделением;

- дозаторы с наконечниками, позволяющие отбирать 0,02 мл, 0,24 мл, 0,72 мл, 0,01 мл, 0,12 мл, 0,36 мл,
- секундомер.

Ход анализа (ручная методика):

Условия проведения анализа:

- длина волны – 660 нм;
- длина оптического пути – 1 см;
- температура - 37°C;

Реагенты довести до температуры 37°C.

Анализатор обнуляют относительно дистиллированной воды.

	Макрометод	Полумикрометод
Реагент 1, мл	0,72	0,36
Калибратор, мл/ Образец, мл	0,02	0,01
Перемешивают и инкубируют 5 минут.		
Реагент 2, мл	0,24	0,12

Перемешивают и измеряют оптическую плотность А через 5 минут после добавления Реагента 2.

Результаты:

Концентрацию гликированного гемоглобина (%) в образце находят по калибровочной кривой. Каждый из калибровочных растворов гликированного гемоглобина анализируется, как описано выше. По результатам анализа строится калибровочная кривая. Концентрация каждого из калибраторов указана на этикетке и в сопроводительных документах.

Контроль качества:

Контроль качества измерений проводится с использованием контрольного материала двух уровней. При непрохождении контролей проводится перекалибровка. После перекалибровки следует снова протестировать контроли. В случае непрохождения контроля качества после перекалибровки, необходимо проверить исправность анализатора и наличие признаков непригодности реагентов.

Каждая лаборатория проводит контроль качества согласно своей утвержденной схеме.

Референсные значения (согласно рекомендациям ВОЗ, 2011г):

Норма: ≤ 6 %.

Преддиабет (высокий риск развития): 6-6,4%.

Гликемический контроль: ≥ 6,5 %.

Интерференция:

Билирубин >872 мкмоль/л, триглицериды > 25 ммоль/л, аскорбиновая кислота > 50 мг/дл.

*Аналитические характеристики:

Чувствительность: 1 %.

Линейность: до 16%.

Точность:

	Воспроизводимость внутри серии		Воспроизводимость межсерийная	
	4,48	12,75	4,69	12,02
Среднее (%)				
SD	0,143	0,395	0,159	0,409
CV	3,2	3,1	3,4	3,4
n	10	10	10	10

Корреляция:

20 образцов было проанализировано с использованием Набора реагентов для определения гликированного гемоглобина (производства «Диасенс») и другим набором реагентов, разрешенным к применению Министерством здравоохранения РБ.

Коэффициент корреляции: 0,982.

*Данные получены при использовании анализатора Mindray серии BS, для других анализаторов они могут отличаться.

Копирование и передача третьим лицам запрещены!

По вопросам методической помощи и закупки обращаться по телефонам: 8017-300-65-11; 8017-320-65-10