

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора для определения гликогемоглобина (HbA1c) в крови «ГЛИКОГЕМОТЕСТ»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор "ГЛИКОГЕМОТЕСТ" предназначен для определения процентного содержания гликогемоглобина (HbA1c) в капиллярной и венозной крови человека, которое используется для диагностики латентной (скрытой) формы сахарного диабета, для ретроспективной оценки декомпенсации больных сахарным диабетом за последние три месяца, оценки состояния больных сахарным диабетом в момент обследования, а также для контроля эффективности лечения больных сахарным диабетом. Набор рассчитан на проведение 100 определений гликогемоглобина.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на принципе аффинного разделения гликированной и негликированной фракции гемоглобина гемолизата крови. Используемый в микроколонках набора аффинный сорбент с привитой 4-аминометилфенилбороновой кислотой обеспечивает на первой стадии специфическое связывание гликогемоглобина и его отделение от негликированной фракции. На второй стадии за счет низкого pH раствора происходит переход бороновой кислоты в свободную ионную форму с высвобождением и последующей полной элюцией гликированной фракции гемоглобина.

Измерение оптических плотностей обеих фракций при длине волны 414 нм (в пределах 405-420 нм) позволяет рассчитать относительное содержание гликогемоглобина в анализируемой пробе.

После обработки сорбента буферным раствором микроколонка может быть использована повторно.

СОСТАВ НАБОРА

- Пластиковые микроколонки в комплекте, заполненные аффинным сорбентом, содержащим привитую 4-аминометилфенилбороновую кислоту - 5 штук;
- Контрольный лиофилизированный образец гликированного гемоглобина с известным (в пределах 9-13%) содержанием HbA1c-1 флакон (0,3 мл);
- Антикоагулянт (Na₂ЭДТА, 0,1 М, натрия хлорид, 0,9%) -1 флакон (25 мл);
- Гомилетик (Тритон X-100, 0,1%, натрий азид, 8 мм) -1 флакон (25 мл);
- Буферный раствор (аммоний ацетатный буфер, 1,0М. р. 8,1 ±0,2, натрий азид, 8 мМ-4 флакона(110мл);
- Раствор уксусной кислоты (уксусная кислота 0,1М) - 2 флакона (105 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

- Диапазон измеряемого содержания гликогемоглобина HbA1c в капиллярной крови человека составляет 4-20 %.
- Коэффициент вариации результатов определения - не более 6%.
- Правильность метода определяется по контрольным образцам гликогемоглобина HbA1c.
- Нормальные величины гликогемоглобина HbA1c в капиллярной крови здоровых людей составляют от 4,4% до 6,0% (NGSP).
- Для правильной интерпретации показаний гликогемоглобина следует учитывать результаты клинических исследований крови.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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 и анализируемыми образцами цельной крови следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита. или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно. Исключается пипетирование раствора ртом. Все сточные растворы следует обрабатывать 6% раствором перекиси водорода при комнатной температуре (18-25°C) не менее 3 часов.

Используемые инструменты и оборудование после окончания работы следует обработать 70% этиловым спиртом.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- фотоколориметр или спектрофотометр, позволяющие проводить измерения при длине волны 414 нм (или в пределах от 405 до 420 нм, или синий фильтр), кювета с длиной оптического пути 1 см;
- штатив для пробирок полистироловый;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,02-5,0 мл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования, ошибка не более 3%;
- пробирки центрифужные, вместимостью 10 мл, и химические круглодонные, вместимостью 5,0-10,0 мл;
- холодильник бытовой;
- бумага лабораторная фильтровальная;
- вода дистиллированная или деионизированная;
- раствор перекиси водорода, 6% раствор;
- спирт этиловый медицинский ректифицированный 70%;
- перчатки резиновые хирургические.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для анализа используется капиллярная или венозная кровь с а чти коагулянтом (ЭДТА, гепарин и др.).

В пробирку, предназначенную для отбора образцов крови, внести 0,2 мл Антикоагулянта (или 3-4 капли) и 0,2 мл (или 3-4 капли) крови.

Перемешать и дать отстояться 15 минут. Отобрать из осадка 0,02 мл эритроцитарной массы (или 0,01 мл, если кровь или образцы

отстаивались более 3-х часов или после центрифугирования) и перенести в пробирку, содержащую 0,2 мл Гомилетика. Перемешать и

отстаивать 5-10 минут до прозрачного состояния. Образцы крови с анти коагулянтом и гемолизаты могут храниться при температуре 2-8°C в течение 10 дней.

Горячая линия поддержки пользователей: **8 800 250 17 50**

По всем вопросам, касающимся качества набора «ГЛИКОГЕМОТЕСТ»,

следует обращаться в ООО «Компания «ЭЛТА» по адресу:

123185, г. Москва, ул. Авиационная д.19, под.б. тел./факс: +7 495 411 90 00 .

и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» МЗ

России по адресу: 117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14а.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ КОНТРОЛЬНОГО ОБРАЗЦА

Во флакон с контрольным образцом добавить 0,3 мл дистиллированной воды и отставить на 10 минут. Затем контрольный образец, не встряхивая, перемешать до полного растворения пиофилизата.
0,02.мл контрольного образца НвА1 развести 0,2 мл Гемолитика. Перемешать.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1.Подготовительные операции.

Достать микроколонки из холодильника, снять вначале верхнюю крышку, затем нижний колпачок и удалить жидкость. Дать микроколонкам прогреться до комнатной температуры (не менее 22-25°C). Промаркировать по 2 пробирки для каждого анализируемого образца крови (А и Б). Для ряда Б желательно использовать круглодонные химические пробирки.
Установить пробирки А в штатив в ряд 1, соответствующие пробирки Б - в соседние гнезда ряда 2.
В пробирки ряда Б внести по 1 мл Буферного раствора.

Не допускается наличие пузырька воздуха под нижним фильтром в носике микроколонки!

2.Проведение анализа образцов крови.

0.1.В соответствующие микроколонки строго на верхний фильтр внести по 0,1 мл гемолизата исследуемых образцов крови.

После впитывания гемолизатов в фильтр внести по 0,1 мл Буферного раствора и дождаться его проникновения в сорбент.

Затем внести в микроколонки по 2,0 мл Буферного раствора и дать стечь жидкости.

Микроколонки из ряда 1 переместить в пробирки Б ряд 2 и внести в них по 2,0 мл. Раствора уксусной кислоты. Дать жидкости стечь. Вынуть микроколонки из пробирок и перенести в другой штатив.

В пробирки А добавить по 4 мл дистиллированной или деионизированной воды и перемешать (фракция Б).

Пробирки Б тщательно перемешать (фракция Б).

Измерить оптическую плотность растворов из пробирок А и Б при длине волны 414 нм (или в пределах 405-420 нм, или синий фильтр), используя в качестве образца сравнения дистиллированную воду.

0.2.Содержание гликогемоглобина НвА1с рассчитать по формуле:

$$\% \text{ НвА1с} = \frac{Of (Б) \times 100}{ОП (Б) \times 2,07 \times ОП (А)} \times 0,71 + 1,9$$

где: ОП (Б) - оптическая плотность фракции Б;

ОП (А) - оптическая плотность фракции А;

2,07 - пересчетный коэффициент оптической плотности фракции А

(соотношение объема фракции А, равной 6.2 мл, и фракции Б, равной 3,0 мл);

100 - пересчетный коэффициент для вычисления процентного содержания.

0,71+1,9 - пересчетные коэффициенты для вычисления фракции НвА1с из общего содержания гликогемоглобина.

1. Уравновешивание и консервация микроколонок.

В микроколонки внести по 1 мл Буферного раствора и дать жидкости стечь. Сорбент микроколонки уравновешен и может быть использован повторно. Для хранения микроколонок внести в них по 0,3 мл Буферного раствора, надеть вначале нижний колпачок, затем верхнюю крышку и поместить в холодильник при +2-8°C. **Строго предохранять сорбент от замораживания**

2. Анализ контрольного образца.

Анализ контрольного образца гликогемоглобина проводить в соответствии п. 2.1 с использованием 0,1 мл раствора контрольного образца вместо 0,1 мл гемолизата крови.

УХОД ЗА МИКРОКОЛОНКАМИ

При образовании под верхним фильтром пузырьков микроколонку следует перезарядить. Для этого в микроколонку с надетым нижним колпачком и без верхней крышки надо внести 3-4 мл дистиллированной или деионизированной воды. Браншем пинцета необходимо нажать на край верхнего фильтра и, когда последний развернется в рабочей части микроколонки, захватить фильтр и извлечь его в верхнюю часть микроколонки. Ланцетом ресуспендировать сорбент до нижнего фильтра. Микроколонку поместить в вертикальное положение на 30-40 минут. После осаждения сорбента стеклянной палочкой соответствующего диаметра поместить верхний фильтр в рабочую часть микроколонки строго в исходное положение (нижний край верхнего фильтра должен быть на уровне отметки на микроколонке). Сорбент промыть 1мл Буферного раствора и микроколонка готова к дальнейшему использованию.

В процессе использования микроколонки сорбент может уплотняться с образованием пространства между верхней поверхностью сорбента и нижним краем верхнего фильтра, размер которого не должен превышать 1 мм. В противном случае микроколонку следует перезарядить.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Наборы должны храниться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов для их транспортировки при температуре до 25°C не более 5 суток

Набор должен применяться согласно Инструкции по применению, утвержденной Минздравом Российской Федерации. Растворы Антикоагулянта, Гемолитика и уксусной кислоты после вскрытия флаконов могут храниться при комнатной температуре в течение всего срока годности. Вскрытый флакон Буферного раствора хранится в течение 3 месяцев. Контрольный раствор гликогемоглобина НвА1с хранится при температуре 2-8°C в течение указанного срока годности. Микроколонки могут храниться при температуре 2-8°C в течение 1 года.

Срок годности набора - 12 месяцев с момента изготовления.

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

NB! Анализ проводить при температуре от 22 до 28°C Буферного р-ра, сорбента микроколонки и образцов Гемолитиком.

Горячая линия поддержки пользователей: 8 800 250 17 50

По всем вопросам, касающимся качества набора «ГЛИКОГЕМОТЕСТ», следует обращаться в ООО «Компания «ЭЛТА» по адресу:

123185, г. Москва, ул. Авиационная д.19, под.б. тел./факс: +7 495 411 90 00.

и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» МЗ России по адресу: 117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14а.

