

## Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania hemoglobiny A1c (HbA1c) we krwi ludzkiej. Oznaczanie HbA1c jest najczęściej wykonywane przy ocenie kontroli glikemii u pacjentów z cukrzycą. Wartości HbA1c wskazują stężenia glukozy w ciągu ostatnich 4-8 tygodni. Wyższa wartość HbA1c wskazuje gorszą kontrolę glikemii. Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*. **Rx Only (produkt wydawany wyłącznie na receptę).**

## Podsumowanie i objaśnienie testu

Przez cały okres krążenia krwinek czerwonych ciągle tworzona jest hemoglobina A1c przez dodawanie glukozy do fragmentu N-końcowego łańcucha beta hemoglobiny. Ten proces, który nie jest procesem enzymatycznym, odzwierciedla średnią ekspozycję hemoglobiny na glukozę w dłuższym odcinku czasu. W klasycznym badaniu Trivelli i wsp.<sup>1</sup> wykazali, że stężenie hemoglobiny A1c u uczestników badania z cukrzycą było podwyższone 2-3-krotnie w stosunku do stężeń występujących u zdrowych osób. Kilku badaczy zaleciło, aby hemoglobina A1c służyła jako wskaźnik kontroli metabolicznej cukrzycy, ponieważ stężenia hemoglobiny A1c zbliżały się do normalnych wartości w przypadku diabetyków z kontrolą metaboliczną.<sup>2,3,4</sup>

Hemoglobina A1c została określona roboczo jako „szybka frakcja” hemoglobiny (HbA<sub>1a</sub>, A<sub>1b</sub>, A<sub>1c</sub>), która jest wymywana jako pierwsza podczas chromatografii kolumnowej z żywicami kationowymiennymi. Hemoglobina nieglikozylowana, która składa się z większości z hemoglobiny, została oznaczona jako HbA<sub>0</sub>. Procedura tego testu wykorzystuje reakcję antygeny i przeciwciał do bezpośredniego określania stężenia HbA1c.

## Zasada działania

Metoda testu wykorzystuje interakcję antygeny i przeciwciał do bezpośredniego oznaczania stężenia HbA1c we krwi pełnej. Hemoglobina całkowita i HbA1c mają takie samo nieswoiste tempo wchłaniania cząstek lateksu. Po dodaniu mysich przeciwciał monoklonalnych przeciw ludzkiej HbA1c (R2) powstaje kompleks lateks-HbA1c-mysie przeciwciała przeciw ludzkiej HbA1c. Aglutynacja powstaje, gdy kozie przeciwciała poliklonalne skierowane przeciwko mysim IgG wchodzi w interakcję z przeciwciałami monoklonalnymi. Wartość aglutynacji jest proporcjonalna do ilości HbA1c wchłoniętej na powierzchni cząstek lateksu. Wartość aglutynacji jest mierzona jako absorbancja. Wartość HbA1c jest uzyskiwana z krzywej kalibracji.

## Odczynniki

R1: Lateks 0,13%, bufor, stabilizator.

R2: Mysie przeciwciała monoklonalne przeciwko ludzkiej HbA1c 0,05 mg/mL, kozie przeciwciała poliklonalne przeciwko mysim IgG 0,08 mg/dL, bufor, stabilizatory.

Odczynnik hemolizy: woda i stabilizatory. (W zestawie o pojemności 40 mL, nie ma w zestawie o pojemności 120 mL)

## Przechowywanie odczynników

Wszystkie odczynniki należy przechowywać w lodówce, w temperaturze 2–8°C.

## Przygotowanie odczynników

Odczynniki R1, R2 i do hemolizy są dostarczane jako płyny gotowe do użycia. Przed użyciem delikatnie wymieszać.

## Rozkład odczynników

Zmiany wyglądu fizycznego odczynników lub wartości materiałów kontroli znajdujące się poza dozwolonym zakresem producenta mogą wskazywać na niestabilność odczynników.

## Procedura (automatyczna)

Sugerowane ustawienia można znaleźć w określonej aplikacji urządzenia.

## Środki ostrożności

1. Ten odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
2. Nie jest przeznaczony do zewnętrznego ani wewnętrznego stosowania u ludzi ani zwierząt.

## Pobieranie i przygotowanie próbek

Specjalne przygotowanie pacjenta nie jest potrzebne. Próbki na czczo nie są wymagane. Nie są wymagane żadne specjalne dodatki ani środki konserwujące inne niż środki przeciwzakrzepowe. Pobrać krew żylną do próbki z EDTA przy użyciu techniki aseptycznej. Wszystkie próbki ludzkie należy uważać za stanowiące potencjalne zagrożenie biologiczne. Dlatego też w trakcie obchodzenia się z próbkami należy stosować uniwersalne środki ostrożności (rękawice, odzież laboratoryjna, unikać wytwarzania aerozolu itp.).

Aby oznaczyć stężenie HbA1c, dla każdej próbki należy przygotować hemolizat:

1. Dodać 1 mL odczynnika hemolizy do oznaczonych próbek: Kontrola, pacjenci itp.
2. Uwaga: Dopuszczalne są próbki plastikowe lub szklane o odpowiedniej wielkości.
3. Umieścić 20 uL dobrze wymieszanej krwi pełnej w odpowiednio oznakowanej próbce z odczynnikami lizy. Wymieszać.
4. Pozostawić na 5 minut lub do momentu pojawienia się oznak całkowitej lizy. Hemolizaty można przechowywać przez 10 dni w temperaturze 2–8°C.

**UWAGA: Wiele klinicznych analizatorów chemicznych może automatycznie wykonać etap przygotowania próbki, eliminując w ten sposób ręczny proces hemolizy próbki. Prosimy o skontaktowanie się z nami, aby uzyskać określony arkusz urządzenia (nazwa i model urządzenia).**

## Przechowywanie i stabilność

1. Wszystkie odczynniki zachowują stabilność do czasu upływu terminu ważności podanego na etykietach. Nie używać odczynników po upływie ich terminu ważności.
2. Odczynniki R1 i R2 są stabilne przez co najmniej jeden miesiąc po otwarciu, jeśli są przechowywane w temperaturze 2–8°C.
3. Hemoglobina A1c w krwi pełnej pobranej do próbki z EDTA zachowuje stabilność przez jeden tydzień w temperaturze 2–8°C.<sup>5</sup>

## Materiały dostarczone

Patrz „Odczynniki”.

## Wymagane wyposażenie niewchodzące w skład produktu

1. Pipety do dozowania 20 uL i 1 ml oraz próbki o pojemności 1,02 mL.
2. Zestaw kalibratorów hemoglobiny A1c, zestaw kontroli i rgt hemolizy dla zestawu 120 mL.

## Procedury testowe

Wavelength:	660 (640-680) nm
Pathlength:	1 cm
Temperature:	37 °C
Sample / Reagent 1 / Reagent 2:	5uL / 180uL / 60 uL
Reaction:	Endpoint (increase)

Proporcjonalna zmiana objętości reakcji wskazanych w procedurze analitycznej nie zmienia wyniku.

## Czynniki zakłócające

1. Bilirubina do 50 mg/dL, kwas askorbinowy do 50 mg/dL, triglicerydy do 2000 mg/dL, karbamylowana Hb do 7,5 mmol/L i acetylowana Hb do 5,0 mmol/L nie zakłócają tego testu.
2. Zgłaszano, że wyniki mogą być niespójne u pacjentów z następującymi chorobami lub stanami: uzależnienie od opiatów, zatrucie ołowiem, alkoholizm, spożywanie dużych dawek aspiryny.<sup>6,7,8,9</sup>
3. Zgłaszano, że podwyższenie stężeń HbF może prowadzić do niedoszacowania stężenia HA1c.<sup>10</sup> Ponadto zgłaszano, że nie wykryto niestabilnych produktów pośrednich (zasada Schiffa) i nie zakłócają one oznaczania HbA1c metodą immunologiczną.<sup>5</sup>
4. Ustalono, że warianty hemoglobiny HbA<sub>2</sub>, HbC i HbS nie zakłócają tej metody testu.
5. Inne bardzo rzadkie warianty hemoglobiny (np. HbE) nie były oceniane.

# Pointe Hemoglobina A1c Zestaw odczynników

## Ograniczenia

1. Test nie jest przeznaczony do diagnostyki cukrzycy.
2. Próbkę pochodzącą od pacjentów powinny być zawsze oznaczane za pomocą krzywej kalibracyjnej.
3. Zgłaszano, że wyniki mogą być niespójne u pacjentów z następującymi chorobami lub stanami: uzależnienie od opiatów, zatrucie ołowiem, alkoholizm, spożywanie dużych dawek aspiryny.<sup>6, 7, 8, 9</sup>
4. Zgłaszano, że podwyższenie stężeń HbF może prowadzić do niedoszacowania stężenia HbA1c oraz, że uremia nie zakłóca oznaczania HbA1c metodą immunologiczną.<sup>10</sup> Ponadto zgłaszano, że nie wykryto niestabilnych produktów pośrednich (zasada Schiffa) i w związku z tym nie zakłócają one oznaczania HbA1c metodą immunologiczną.<sup>5</sup>
5. Ustalono, że warianty hemoglobiny HbA2, HbC i HbS nie zakłócają tej metody testu.
6. Inne bardzo rzadkie warianty hemoglobiny (np. HbE) nie były oceniane.

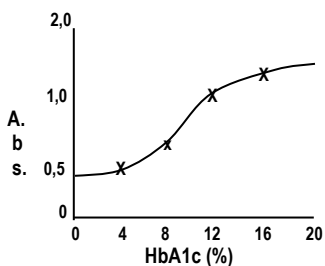
## Kontrola jakości

Wiarygodność wyników badań powinna być monitorowana za każdym razem, gdy próbki pacjentów są testowane przy użyciu wzorca i materiałów kontroli jakości analizowanych w taki sam sposób, jak w przypadku próbek o nieznanym statusie. Sugerujemy stosowanie w badanym zakresie dostępnych na rynku kontroli hemoglobiny A1c. Jeśli kontrole nie mieszczą się w badanym zakresie wartości pacjenta z tej serii, nie należy ich zgłaszać. Serię należy powtórzyć, upewniając się, że wszystkie instrukcje dotyczące mieszania i obsługi są ściśle przestrzegane.

Liniowość oznaczenia powinna być sprawdzana przy użyciu komercyjnego zestawu do kontroli liniowości lub rozcieńczeń próbki o dużym stężeniu, co najmniej co sześć miesięcy.

## Obliczenia/wyniki

Wyniki stężenia HbA1c dla próbek o nieznanym statusie i kontroli są określane na podstawie przygotowanej krzywej kalibracji. Przykładową krzywą przedstawiono poniżej:



## Wartości oczekiwane<sup>11</sup>

Zalecane wartości: poniżej 6% w przypadku osób bez cukrzycy, poniżej 7% w przypadku kontroli glikemii u osób z cukrzycą.

Każde laboratorium powinno ustalić własne zakresy referencyjne. W przypadku stosowania oznaczenia hemoglobiny A1c do monitorowania pacjentów z cukrzycą wyniki należy interpretować indywidualnie. Oznacza to, że pacjent powinien być monitorowany w porównaniu do innych wyników próbek tego pacjenta. Istnieje 3-4-tygodniowe opóźnienie czasowe, zanim stężenie hemoglobiny A1c będzie odzwierciedlać zmiany stężenia glukozy we krwi.

## Działanie

1. **Liniowość:** Zakres testu hemoglobiny A1c wynosi 2,0%–16,0%.
2. **Porównanie:** Badanie przy użyciu 40 próbek ludzkich testowanych przy użyciu tego testu do oznaczenia stężenia hemoglobiny A1c oraz zautomatyzowanej procedury HPLC (Tosoh) wykazało współczynnik korelacji równy 0,988 i równanie regresji liniowej wynoszące  $y=0,983x + 0,140$ . ( $Syx = 0,230$ )
3. **Precyzja:**  
W jednej serii testu: Precyzja w ramach serii została ustalona poprzez oznaczenie próbek krwi zgodnie z protokołem NCCLS EP5 na analizatorze Hitachi 717.

	NISKA	ŚREDNIA	WYSOKA
N	20	20	20
Średnio	5,97	8,49	12,21
SD	0,138	0,072	0,152
CV	2,31%	0,85%	1,24%

Pomiędzy dniami: Precyzja pomiędzy dniami została ustalona poprzez oznaczenie próbek krwi zgodnie z protokołem NCCLS EP5 na analizatorze Hitachi 717.

	NISKA	ŚREDNIA	WYSOKA
N	20	20	20
Średnio	5,95	8,34	12,15
SD	0,190	0,093	0,179
CV	3,19%	1,12%	1,47%










4. **Czułość:** Czułość badano przez odczytanie zmiany w zakresie absorbancji przy fali o długości 660 nm dla próbki roztworu soli fizjologicznej i próbki krwi pełnej o znanym stężeniu. Wykonano dziesięć powtórzeń każdej próbki. Wyniki tego badania wskazują, że w używanym analizatorze (Hitachi 717) odczynnik HbA1c wykazywał brak lub niewielkie odchylenie dla próbki zerowej. W opisanych warunkach reakcji zmiana absorbancji o 0,056 odpowiada w przybliżeniu 1,0% HbA1c.

## Piśmiennictwo

1. Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284,353 (1971).
2. Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
3. Gabbay, K.H., Hasty, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
4. Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 16 (Jan. 1978).
5. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p.794-795 (1999).
6. Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, p. 379 (1982).
7. Little, R.R., et al. Clin. Chem. 32, pp. 358-360 (1986).
8. Fluckiger, R., et al, New Eng.J. Med. 304 pp. 823-827 (1981).
9. Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, pp. 466-469 (1983).
10. Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, pp. 93-97 (1989).
11. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).

# Pointe Hemoglobina A1c Zestaw odczynników

## Objaśnienie symboli

 Zużyć przed (RRRR-MM-DD)	 Kod partii i serii
 Numer katalogowy	 Producent
 Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Granica temperatury
 Zapoznać się z instrukcją używania	
<b>Rx Only:</b> Produkt wydawany wyłącznie na receptę	
 Znak CE	 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 H7546-40 H7546-120		Wyprodukowane przez HORIBA Instruments Incorporated: Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188		 2°C - 8°C	
---	---	---	---	---	---

Wyprodukowane przez HORIBA Instruments Incorporated: Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Autoryzowany przedstawiciel w Europie:  
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53  
1030 Bruksela, BELGIA

Tel.: (32)2.732.59.54 Faks: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net



## Gwarancja potwierzonego działania

Firma Pointe zaświadcza, że wszystkie nasze produkty są produkowane zgodnie z określonymi parametrami. Każdy produkt, który nie spełnia specyfikacji przed upłynięciem jego terminu ważności podanego w wykazie, zostanie niezwłocznie wymieniony bez ponoszenia jakichkolwiek opłat.

Rev 06/22 P803-H7546-01-PL