УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____Е.Н.Схолль-Энгбертс

«12» декабря 2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора контрольных материалов
для контроля правильности количественного определения концентрации
гликозилированного гемоглобина в цельной крови

(Гликозилированный гемоглобин-Контроль-Витал)
(2 уровня)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор контрольных материалов Гликозилированный гемоглобин-Контроль-Витал предназначен для контроля правильности и воспроизводимости результатов определения концентрации гликозилированного гемоглобина (HbA1c) в цельной крови человека иммунотурбидиметрическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Определение содержания HbA1c в цельной крови человека имеет важное значение для ранней диагностики сахарного диабета, для длительного контроля за состоянием больных диабетом, т.к. уровень HbA1c отражает среднюю концентрацию глюкозы в крови на протяжении предшествующих 4-8 недель, а также для контроля за эффективностью проводимого лечения. Высокий уровень HbA1c свидетельствует о недостаточной коррекции содержания глюкозы в крови. Содержание HbA1c обычно выражают в процентах от общей концентрации гемоглобина.

Набор рассчитан для проведения 50 определений при расходе 20 мкл раствора каждого контрольного материала HbA1c на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Для определения концентрация гликозилированного гемоглобина использован метод иммунотурбидиметрического анализа. Гемоглобин и гликозилированный гемоглобин (HbA1c) одинаково адсорбируются на поверхности частиц латекса. При взаимодействии поликлональных козьх антител к иммуноглобулину G мыши с комплексом, образованным моноклональными мышиными антителами к HbA1c и молекулами HbA1c, адсорбированными на частицах латекса, возникает агглютинация, степень которой пропорциональна количеству молекул HbA1c. Агглютинация увеличивает оптическую плотность исследуемой пробы, которая регистрируется фотометрически при длине волны 670 (580-690) нм. Величину содержания HbA1c в анализируемых пробах (в %) определяют по калибровочному графику.

2.2. Состав набора:

В состав набора входят 2 флакона, содержащих гликозилированный гемоглобин (HbA1c) с концентрацией в пределах:

- флакон № 1: 4,1%-8,1% (1-ый уровень);
- флакон № 2: 9,8% -14,8% (2-ой уровень).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав контрольных материалов входят следующие компоненты: гемолизат эритроцитов человека, 95,6%; натрия гидроокись, 0,4%; t-октилфеноксиполиэтоксиэтанол, 1,9%; Тритон Х 100, 2,1%; HbA1c. Величины содержания HbA1c в контрольных материалах установлены по калибраторам, восходящим к Международному стандарту NGSP.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Концентрация HbA1c в растворах контрольных материалах должна находится в пределах: флакон № 1 – 4,1%-8,1%, флакон № 2 – 9,8%-14,8%.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 8 %.

Допустимый разброс результатов при параллельных измерениях концентрации HbA1c разными наборами одной серии – не более 10%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности - соблюдение «Правила 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 контрольными материалами необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. в их состав входит кровь человека, которая является потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Спектрофотометр, длина волны 670 (580-690) нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор открытого типа;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные, со сменными наконечниками, позволяющие отмерять объемы жидкости 5-40 мкл, 5-200 мкл и 200-1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3,0-5,0 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые;
- масштабно-координатная бумага;
- набор реагентов «Гликозилированный гемоглобин-Витал»;
- набор калибраторов «Гликозилированный гемоглобин-Калибратор-Витал» (4 уровня).

6. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

6.1. Перед использованием содержимого каждого флакона с контрольным материалом растворить в 0,5 деионизированной воды, плотно закрыть флакон и плавно перемешивать содержимое, не допуская образования пены, в течение времени не менее 10 мин, или до полного растворения лиофилизата.

Растворенные контрольные материалы можно хранить при температуре 2-8°С в темном месте в плотно закрытом виде не более 1 мес или при температуре минус 20°С в темном месте в плотно закрытом виде не более 3 мес. Повторное размораживание не допускается.

6.2. Компоненты наборов «Гликозилированный гемоглобин-Витал» и «Гликозилированный гемоглобин-Калибратор-Витал» выдержать при комнатной температуре (18-25°С) в течение времени не менее 30 мин.

6.3. Приготовление рабочего реагента.

Рабочий реагент из набора «Гликозилированный гемоглобин-Витал» приготовить в соответствии с инструкцией по применению этого набора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приготовленный рабочий реагент можно хранить при температуре 2-8°С не более 1 мес.

6.4. Построение калибровочного графика.

Калибраторы, входящие в состав набора «Гликозилированный гемоглобин-Калибратор-Витал», приготовить (растворить) в соответствии с инструкцией по использованию этого набора.

Подготовить 5 пробирок вместимостью 3,0 мл. Внести в каждую пробирку по 1,0 мл реагента 4 из набора «Гликозилированный гемоглобин-Витал». Добавить в соответствующую пробирку по 20 мкл соответствующего калибратора из набора «Гликозилированный гемоглобин-Калибратор-Витал» (4 уровня), в пятую пробирку добавить 20 мкл физиологического раствора (нулевая точка калибровки). Тщательно перемешать содержимое пробирок и инкубировать при температуре 18-25°С в течение времени не менее 5 мин до полного завершения гемолиза (гемолизат).

Подготовить 5 пробирок вместимостью 3,0 мл, внести в каждую пробирку по 350 мкл предварительно перемешанного реагента 1 из набора реагентов «Гликозилированный гемоглобин-Витал», добавить в соответствующую пробирку по 10 мкл полученного гемолизата, пробы тщательно перемешать и инкубировать при температуре 37°С в течение 5 мин (точно!). Добавить в каждую пробирку по 125 мкл рабочего реагента (см п. 4.2.2.4), тщательно перемешать, инкубировать при температуре 37°С в течение 5 мин (точно!), перемешать и измерить оптическую плотность калибровочных проб против нулевой точки калибровки при длине волны 670 (580-690) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Построить на масштабно-координатной бумаге калибровочный график в полулогарифмических координатах, откладывая на оси абсцисс (логарифмическая) значения содержания HbA1c в калибраторах, а на оси ординат (линейная) – значения соответствующих величин оптических плотностей калибраторов.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Приготовить 2 пробирки вместимостью 3,0 мл для опытных проб и 1 пробирку вместимостью 3,0 мл для контрольной (холостой) пробы.

Во все пробирки внести по 1,0 мл реагента 4 из набора «Гликозилированный гемоглобин-Витал». В пробирки для опытных проб добавить по 20 мкл образцов контрольных материалов HbA1c (см п. 6.1), в пробирку для контрольной (холостой) пробы – 20 мкл физиологического раствора. Тщательно перемешать содержимое пробирок и инкубировать при температуре 18-25°С в течение времени не менее 5 мин до полного завершения гемолиза (гемолизат).

Приготовить 2 пробирки вместимостью 3,0 мл для опытных проб и 1 пробирку вместимостью 3,0 мл для контрольной (холостой) пробы. Внести в каждую пробирку по 350 мкл предварительно перемешанного реагента 1 из набора «Гликозилированный гемоглобин-Витал», добавить в каждую пробирку для опытных проб по 10 мкл гемолизата, полученного из опытных проб и контрольной (холостой) пробы, тщательно перемешать и инкубировать при температуре 37°С в течение 5 мин (точно!).

Добавить в каждую пробирку по 125 мкл рабочего реагента (см п. 6.3), тщательно перемешать, инкубировать при температуре 37°С в течение 5 мин (точно!), перемешать и измерить оптическую плотность опытных проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 670 (580-690) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

По калибровочному графику (см п. 6.4) определить величину содержания HbA1c в каждом образце контрольного материала.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°С в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25°С не более 2 сут. Срок годности набора – 1 год.

Растворенные контрольные материалы можно хранить при температуре 2-8°С в темном месте в плотно закрытом виде не более 1 мес или при температуре минус 20°С в темном месте в плотно закрытом виде не более 3 мес. Повторное замораживание не допускается.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д.27.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО
Минздрава России, д. м. н., профессор В.В. Долгов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru