

# návod k použití



## GLYKOVANÝ HEMOGLOBIN

Souprava pro kvantitativní stanovení HbA1c v plné krvi in vitro na analyzátoru SMART.

### • KAT. Č. / VEL. BAL.

Kat. č.		Složení soupravy
DZ168B-POC	HbA1c	20 eppendorfek s hemolyzačním roztokem, 20 jednorázových kyvet s R1a, 20 horních částí kyvet s R2, 1 hnědá lahvička s R1a, 20 kapilár na odběr krve, 40 Pasteurových pipet, 1 RFID karta, návod k použití

Kontrola	
DZ168B-CON	HbA1C kontrola

### • PRINCIP

Nejprve dojde k hemolýze erytrocytů ve vzorku působením Bacillus sp protězy, přitom se uvolňují aminokyseliny včetně glykovaného valinu z beta řetězce hemoglobinu. Glykovaný valin pak slouží jako substrát pro FVO (fruktosylvalinoxidázu), enzym, produkovaný E.coli. Rekombinantní FVO specificky štěpí N-terminální řetězec valinu a vzniká peroxid vodíku. Ten pak reaguje s chromogenem a působením POD (křénové peroxidázy) vzniká barevný roztok. Intenzita zabarvení je přímo úměrná % koncentraci HbA1c ve vyšetřovaném vzorku. Kalibrační křivka je obsažena v RFID kartě a je určena vždy pro příslušnou šarži diagnostické soupravy.

### • SLOŽENÍ REAGENTŮ

Složení	Koncentrace
<b>Pufr:</b> CHES, pH 8.7 Triton-X-100 SDS Redukující látky	100 mmol/l 1 % 0,45 % 0,5 mmol/l
<b>Reagent R1a:</b> MES pH 7.0 Proteáza Triton-X-100 Redukující látky	5 mmol/l 66,68 µkat/L 0,5 % >10 µM
<b>Reagent R1b:</b> MES pH 6.3 Redukující látky Triton-X-100	1 mM < 7 mM 0,1 %
<b>Reagent R2:</b> Tris pH 8.0 FVO enzyme POD Chromagen	15 mM > 0,17 µkat/L 1,5 µkat/L 0,8 mM

### • PŘÍPRAVA A VZHLED REAGENTŮ

Reagenty jsou připraveny k použití. Před použitím je třeba je vytemperovat (cca 10 minut).

### • SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENTŮ

Skladování:	2 – 8 °C, chraňte před světlem
Stabilita:	uzavřené do data expirace

### • SKLADOVÁNÍ A STABILITA VZORKŮ

K přípravě hemolýzátu použijte čerstvou plnou krev odebranou z prstu nebo plnou žilní krev (EDTA) v množství 20 µl.

Stabilita vzorku 2 týdny 4°C

### • PŘEPOČET JEDNOTEK

IFCC = (NGSP – 2,15) / 0,915  
NGSP = [0,915 x (IFCC)] + 2,15

### • REFERENČNÍ HODNOTY (%)

zdraví dospělí	< 4,21 (IFCC) < 6% (NGSP)
kompenzovaní diabetici	< 5,30 (IFCC) < 7% (NGSP)

### • DALŠÍ ÚDAJE

**Rozsah měření:** 1,5-10,8% (IFCC) 3,5-12% (NGSP).

**PŘESNOST:** byla porovnána dle CLSI EP5-A guidelines následovně: vzorky plné krve s obsahem 5,6 a 7,4% HbA1c a 1 kontrolní vzorek s obsahem 11,5% HbA1c byly analyzovány 2x denně v doubletu po 10 dní s následujícími výsledky:

V sérii n = 40	Průměr [%]	SD	CV [%]
5,6 %	5,4	0,13	2,4
7,4 %	7,4	0,22	3,0
11,5 %	11,4	0,13	1,2

Celková přesnost % CV

n = 40	Průměr [%]	SD	CV [%]
5,6 %	5,4	0,15	2,7
7,4 %	7,4	0,19	2,5
11,5 %	11,4	0,15	1,3

### • POROVNÁNÍ METOD:

Měření 64 vzorků s obsahem HbA1c 4,5-11,1% touto metodou (y) a soupravou firmy Roche na Hitachi 917 (x) vyjadřuje rovnice:

$$y = 0,96x + 0,30; r = 0,94$$

### • INTERFERENCE (<10%)

Kyselina askorbová < 30 mg/dl  
Celkový bilirubin < 256,4 µmol/l  
Přímý bilirubin < 85,5 µmol/l  
Glukóza < 277,8 mmol/l  
TG < 45,2 mmol/l  
Kyselina močová < 1,8 mmol/l  
Urea < 16,6 mmol/l

Karbamyl Hb a nestabilní HbA1c s enzymatickým stanovením neinterferují. Ani u variant hemoglobinu AD, AE, AS, AC a AF nebyla zjištěna interference s tímto stanovením.

### • KALIBRACE

Kalibrační údaje jsou pro uloženy na magnetické kartě, která se vloží před měřením vzorků do přístroje. Karta je součástí každé soupravy.

## • KONTROLA KVALITY

Kontrolní vzorek by měl být analyzován v pravidelných intervalech dle místních předpisů.

Doporučujeme:

Kat. č.	
DZ168B-CON	HbA1c kontrola (2 hladiny)

## • OMEZENÍ

Linearita je do 12% (NGSP). Vzorky s vyšší koncentrací by měly být znovu analyzovány naředěné.

Celkový Hb by měl být v rozmezí 90-210 g/l.

Vysoká koncentrace fetálního hemoglobinu HbF (>10%) může ovlivnit výsledek.

## • UPOZORNĚNÍ

- Nepoužívejte reagent po datu expirace!
- Zbytky reagentů likvidujte dle platných předpisů.
- Vyvarujte se kontaktu reagentů s kůží a oční spojivkou a jejich požití.
- Výsledek HbA1c musí být porovnán s klinickým stavem pacienta a výsledky dalších vyšetření.

## • KLINICKÝ VÝZNAM

HbA1c vzniká v průběhu života erytrocytu vazbou glukózy na aminoskupiny hemoglobinu, obzvláště na valin v N-terminální konci beta řetězce hemoglobinu. Jedná se o neenzymatickou ireverzibilní reakci. Čím vyšší je hladina glukózy, tím více se jí naváže na hemoglobin. Koncentrace HbA1c vypovídá o průměrné glykémii v předešlých 2-3 měsících.

## • LITERATURA

- Goldstein, D.E., *et al*, Diabetes Care, 27(7): 1761-73 (2004)
- United Kingdom Prospective study, Lancet. 352: 837-53 (1998)
- The Diabetes Control and Complications Trial research Group, N.Engl.J.Med. 329: 977-86 (1993)
- Little, R. *et al.*, Clin Chemistry, 47: 1985-1992 (2001)
- American Diabetes Association Clinical Practice recommendations: Executive Summary: Standards of Medical Care in Diabetes – 2009 Diabetes Care, 32, suppl.1: S6-7 (2009)
- NGSP, <http://www.ngsp.org/ngsp.html>
- Hoelzel W *et al.* IFCC reference system for measurement of haemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan and Sweden: a method-comparison study. Clin Chem 2004;50: 166-74
- Sacks, D (ed). Global Harmonization of Hemoglobin A1c. Clin Chem 51(4): 681-683 (2005)



### Diazyme laboratories

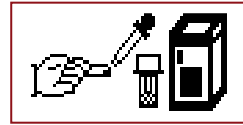
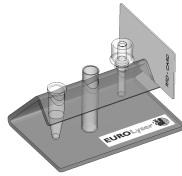
12889 Gregg Court  
Poway, CA 92064, USA  
Tel.: 001 858-455-4768,  
Fax: 001 858-455-3701  
e-mail: [support@diazyme.com](mailto:support@diazyme.com),  
[www.diazyme.com](http://www.diazyme.com)

### Dovozce pro ČR:

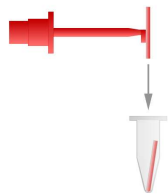
**dot®diagnostics, s.r.o.**  
Ruzyňská 519/16  
CZ - 161 00 Praha 6  
Tel.: +420 235 318 612,  
Fax: +420 235 318 614  
e-mail: [dotdiag@dotdiag.cz](mailto:dotdiag@dotdiag.cz),  
[www.dotdiag.cz](http://www.dotdiag.cz)

## • POSTUP MĚŘENÍ

1. Vložte kartu do přístroje, umístěte obě části kyvety a eppendorfku s hemolyzačním činidlem do stojánku (alespoň 10 minut před použitím) a stiskněte symbol:



2. Odeberte 20ul krve z prstu do kapiláry. Kapilára musí být plná. Kapiláru vložte do eppendorfky s hemolyzačním činidlem. Obsah eppendorfky důkladně protřepejte 30x nebo 15s, aby došlo ke kompletní hemolýze vzorku. Vložte eppendorfku do stojánku a počkejte 2 min.



3. Pomocí Pasteurovy pipety (součást soupravy) napipetujte 100μl R1b z hnědé lahvičky (Reagent 1B) a přidejte do kyvety. (s Pasteurovou pipetou pracujte přesně podle návodu a obrázků níže).

4. Novou pipetou pak odměřte 100μl hemolyzátu a přidejte do kyvety, uzavřete kyvetu horní částí a vložte do přístroje.

5. Stiskněte Start a počkejte na výsledek, který se objeví na displeji cca za 7 minut.

### Použití Pasteurovy pipety:



1. Stiskněte horní balónek.
2. Ponořte zmáčknutou pipetu do roztoku.
3. Pomalu uvolněte stisk, roztok se nasaje do pipety. Přebytek je zachycen v dolním balónku a nesmí se dostat do kyvety.
4. Konec pipety ponořte do kyvety.
5. Stiskněte horní balónek.
6. Po aplikaci roztoku vyjměte ještě zmáčknutou pipetu z kyvety.

**Pokud používáte ke stanovení žilní krev,** odeberte 20μl žilní krve pipetou, vzorek přidejte do eppendorfky s hemolyzačním činidlem, obsah eppendorfky důkladně protřepejte 30x nebo po dobu 15s, aby došlo ke kompletní hemolýze. Vložte eppendorfku do stojánku a počkejte 2 min.



A dále pokračujte dle bodu 3, 4 a 5 výše.