

Ензимен директен

Съдържание:	BXC0672A	BXC0672B
R1 Буфер	1x7ml	1x21ml
R2 Реагент	1x3ml	1x9ml
R3 Ензим/хромоген	1x4.5ml	1x12.5ml
R4 хемолизат	1x15ml	1x45ml

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Определянето на HbA1c се налага за гликемичен контрол при обикновения диабет. Стойностите на HbA1c показват нивата на глюкоза през предшестващите 4-8 седмици. Повишените стойности на HbA1c означават понижен гликемичен контрол.

ПРИНЦИП НА ТЕСТА

Протеазата поглъща лизирани проби пълна кръв и освобождава от Hb бета веригите аминокиселини като гликирани валини. Рекомбинантният фруктозил валинов оксидазен ензим след това въздейства на гликираните валинидо образуването на въглероден пероксид. Той се измерва с реакция, катализирана от хрянова пероксидаза и подходящ хромоген.

РЕЗЮМЕ

По време на циркулацията на червените кръвни клетки непрекъснато се образува HbA1c чрез притеглянето на глюкозата към бета-хемоглобиновата верига. Процесът, който е не-ензимен, отразява средното експониране на хемоглобина към глюкозата пред по-дълъг период. Trivelli et al показаха, че нивата на HbA1c при пациенти страдащи от диабет са 2-3 пъти по-високи в сравнение с тези при здрави индивиди. Няколко изследвания установяват, че HbA1c служи като индикатор за метаболизма при диабета, защото нивата на HbA1c достигат нормални граници при метаболитен контрол. HbA1c беше определен като един от „бързо фракционните“ хемоглобини (HbA1a, A1b, A1c) които най-лесно се установяват чрез колонна хроматография с катион-обменни смоли. Негликозидирания хемоглобин, който е основната съставка на хемоглобина беше означен като HbA0.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

R4 хемолизат	циклохексан 2-аминоетан сярна киселина	100 mM
	Тритон X 100	1%
	SDS	0.45%
	Редокс антиген	0.5mM
R1 буфер	MESpH 7.0	5mM
	протеаза	4KU/ml
	тритон X 100	0.5%
	Редокс антиген	>10uM
R2 реагент	MES pH6.3	1mM
	Редокс антиген	<3mM
R3 ензим/хромоген	Tris буфер pH 8.0	15 mM
	FVO ензим	>10U/ml
	POD	90U/ml
	хромоген	0.8mM

РАБОТА И ПОДГОТОВКА НА РЕАГЕНТИТЕ

Реагентите са стабилни до срока на годност на опаковката, ако се съхраняват на 2-8°C.

R1-R2 работен реагент: При работа с автоматичен анаализатор смесете R1 и R2 в съотношение 7:3. Тази смес е стабилна до 30 дни при 2-8°C. Смесете и оставете да престои една нощ на температурата на съхранение преди употреба. Това ще ви осигури стабилност на

калибрация до 7 дни. Смесените реагенти могат да не се използват незабавно, но трябва да се калибрират на следващия ден.

При мануална работа работния разтвор от R1 и R2 може да се приготвя за всеки анализ. Смесете 336ul от R1 и 144ul от R2 в епруетка и започнете анализа.

R3 е готов за работа.

ПРОБА

Прясна проба пълна кръв с EDTA.

HbA_{1c} е стабилен 72 часа при + 2°C до +8°C в хемолизата.

Материали, които не са включени, но са необходими за работа

КАЛИБРАТОРИ И КОНТРОЛИ

Кат No	описание
BXC0678A	HbA1c калибратор, комплект, 2 x1x 0.5 mL
BXC0676A	HbA1c контрол, ниски стойности, 1x 1 mL
BXC0677A	HbA1c контрол, повишени стойности, 1x 0.5 mL

Стойностите на контролите и калибратора са дадени в листовките към опаковките..

ПРИ РАБОТА С АВМАТИЧЕН АНАЛИЗАТОР:

Програмите за адаптация на различните автоматични анализатори могат да бъдат предоставени при поискване.

МАНУАЛНА РАБОТА

Процедура за лизиране на пълна кръв: (мануално и автоматично)

Пригответе свеж хемолизат от всяка проба..

Накапете 250ul от хемолизния реагент в епруетка. Прибавете 20 ul добре размесена пълна кръв (стандарт, проби и контроли) в епруетката с хемолизния реагент. Размесете добре. Оставете 5 мин и направете анализа, както е указано по-долу:

Дължина на вълната	температура	кувета	измерване
700 nm	37°C	1 cm св.пътека	Срещу дест.вода
пипетирайте:			
		калибратор/проба/контроли	
Хемолизиран калибратор/проба/контроли		75 µl	
R1-R2 работен реагент (според ман.процедура)		480 µl	
Инкубирайте сместа за 5 мин при 37°C и отчетете абсорбцията A1			
R3 ензим/хромоген		210 µl	
Смесете и отчетете абсорбцията A2 след инкубиране за 3 мин при 37°C.			

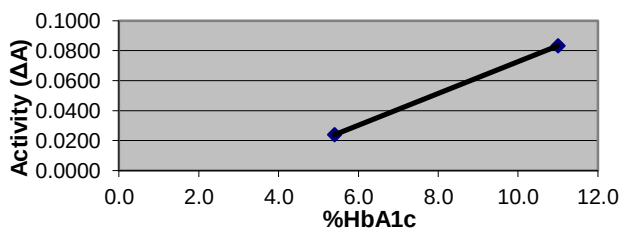
ИЗЧИСЛЕНИЕ

Изчислете разликата в абсорбцията както следва:

$$\Delta A = A2 - (A1 \cdot 0.725)$$

Начертайте стандартна крива с ΔA на остта Y и концентрацията на калибрацията на остта X и изчислете процента на HbA1c според графиката. Например:

$$\text{HbA1c Calibration Curve } y = 0.0106x - 0.0332 \\ R^2 = 1$$



ВАЖНА ЗАБЕЛЕЖКА ЗА КАЛИБРИРАНЕТО

Не използвайте сляпа проба със смесен реагент, с вода или с физиологичен разтвор за нулиране на апарата.

За анализатори, където е задължителен калибратор 0, моля използвайте ензимния нулев калибратор за HbA_{1c}, който се предлага като отделен продукт.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Характеристиката на процедурата беше проверена на клиничен анализатор (Hitachi 911).

Измерен обхват: 4 – 12 %

Точност:		ниска	средна	висока
(%CV)	При анализ	2.83 %	1.13%	1.93%
(%CV)	Между серии	2.96%	1.23%	2.02%

Интерференции: Не беше установена за аскорбинова киселина (12 mg/dL), Триглицериди (4000 mg/dL), билирубин (15 mg/dL). Ацетиления, карбамилирования и неустойчивия HbA_{1c} не влияят на теста. Няма интерференция с хемоглобини S, C и E. HbF >10% може да повлияе на точността на анализа.

Сравнение на метода:

Методът на Fortress за HbA_{1c} (y) беше сравнен с други предлагани методи (x) и показва следните резултати:

$$y = 1.0212x - 0.135; r = 0.9874$$

НОРМАЛНИ СТОЙНОСТИ

Следните прагови точки бяха определени при пациенти с диабет:		
	NGSP	IFCC
Не-диабетици	4.0 – 6.0%	2.0 – 4.2%
Цел	6.0 – 6.5%	4.2 – 4.8%
При контролиране	6.5 – 8%	4.8 – 6.4%
Препоръчва се контролиране	>8%	>6.4%
Всяка лаборатория трябва да установи преносимостта на очакваните стойности на своите пациенти и ако е необходимо да определи свои референтни граници. За диагностични цели резултатите на изследването на HbA _{1c} винаги трябва да се разглеждат заедно с медицинската история на пациента, клиничните изследвания и другите резултати.		

Стойностите, установено с този набор съответстват а системата за Диабетен контрол и Клинични изпитания и затова са показани в NGSP формат. Стойностите по IFCC могат да бъдат изчислени по формулата $NGSP = ((0.915 \times (IFCC)) + 2.15)$

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

1. Само за vitro диагностика.
2. Натриевият азид може да образува оловни или медни азиди в канализацията, които са избухливи. Изплаквайте обилно с вода след изхвърляне на течности, съдържащи натриев азид.
3. Беше установено, че всички суровини, използвани в стандартите и контролите са отрицателни за HIV1 и HIV2 антитела, хепатит В повърхностен антиген и анти-хепатит С антитела по методи, одобрени от FDA.

БЕЗОПАСНОСТ

Наборът е предназначен за приложение само от съответно квалифициран лабораторен персонал. Прилагайте установените предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти. Не поглъщайте материалите. Изхвърляйте материалите според местните разпоредби.

REV 08/11

ПРОИЗВОДИТЕЛ: Fortress Diagnostics Limited, Unit 2C Antrim Technology Park, Antrim BT41 1QS (United Kingdom) TEL: +44 (0) 2894 487676

FAX: +44 (0) 2894 469933 www.Fortressdiagnostics.com

ВНОСИТЕЛ: ЕТГ ЕООД София 1504 ул. Тракия № 15 ет. 1 оф. 1

Тел. 02 8468162 факс 02 846 8163 office@etgdiag.com