

MAGYAR

CSAK PROFESSZIONÁLIS FELHASZNÁLÁSRA

AZ ESZKÖZ CÉLJA

A HbA1c teszt egy immunturbidimetriás eljárás a paciens teljes vére hemoglobinnal (HbA1c) %-os arányának megállapítására klinikai kémiai analízátor segítségével. A HbA1c mérése a diabéteszes beteg hosszú távú glikémiás kontrolljának monitorozására használható.

ÖSSZEFOGLALÓ


A HbA1c a glükóz és a hemoglobin béta-lánc N-terminális aminosoportja közötti reakció eredményeképp alakul ki. A Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) kutatócsoport a HbA1c%-os aránya és a megelőző 2-3 hónap átlagos glükózsintje közötti összefüggésről számolt be¹. A DCCT vizsgálat azt mutatta, hogy a diabétesz hosszú távú megfelelő kontrollja megelőzheti az olyan szövődmények kialakulását, mint pl. a szív-érrendszeri betegségek, retinopátia, nefropátia, és neuropátia.

A HbA1c %-os arányának mérése a választandó módszer a diabéteszes betegek kezelésének monitorozására^{2,3}.

ALAPELVEK

Az Axis-Shield HbA1c teszt antigén-antitest kölcsönhatás segítségével közvetlenül határozza meg a HbA1c %-os koncentrációját a teljes vérben. A vvt-k líziséhez a vérmintát lízis oldószerrel kell kezelni. A lizált minták latex mikrorészecskékkel (reagens 1) kerülnek inkubálásra. A hemoglobin és a HbA1c a mikrorészecskék felületére kötődik. Anti-HbA1c (egér monoklonális) antitest (reagens 2) hozzáadásával egy latex-HbA1c-antitest komplexum alakul ki. Az agglutináció mértéke turbidimetriás eljárással kerül meghatározásra, és egyenesen arányos a mikrorészecskék felületén adszorbeált HbA1c mennyiségével.

KIT TARTALMA


REAG 1	1 x 40,8 ml	Latex mikrorészecskék 0,13%, puffer, stabilizálók HASZNÁLATRA KÉSZ	
REAG 2	1 x 17,1 ml	Egér anti-humán HbA1c (monoklonális) 0,04 mg/ml, anti-egér IgG (poliklonális) 0,06 mg/ml, puffer, stabilizálók (Proclin 300) HASZNÁLATRA KÉSZ FIGYELEM	
LYSIS DILUENT	4 x 60,0 ml	Puffer, stabilizálók (Na-azid, <0,01%). HASZNÁLATRA KÉSZ	

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK ÉS ESZKÖZÖK

- Általános laboratóriumi felszerelés
- Desztillált, vagy RO víz
- AXIS-SHIELD HbA1c kalibráló kit, termékkód: FHHBA300
- AXIS-SHIELD HbA1c kontroll kit, termékkód: FHHBA200

FIGYELEMZETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- IVD** in vitro diagnosztikai célra.
- Minden hulladékot a helyi előírásoknak megfelelően kezeljen.
- A lízis hígító nátrium-azidot tartalmaz, mely az ólom és réz csövek anyagával nagyon robbanékony fém-azidokat képez. Kiöntéskor nagy mennyiségű vízzel elegyítse, a fém-azidok képződésének megelőzése érdekében.
- A biztonsági adatlapok igény esetén elérhetők az Axis-Shield-nél.

 REAG 2 FIGYELEM	FIGYELEM	
	H315 –	Bőrirritáló hatású.
	H317 –	Allergiás bőrreakciót válthat ki.
	H319 –	Súlyos szemirritációt okoz.
	MEGELŐZÉS	
	P264 –	A használatot követően a(z) -t kéz alaposan meg kell mosni.
P280 –	Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.	
	VÁLASZ	
P305+351+338 –	SZEMBE KERÜLÉS esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.	
P332+313 –	Bőrirritáció esetén: orvosi ellátást kell kérni.	
P362 –	A szennyezett ruhát le kell vetni és az újbóli használat előtt ki kell mosni.	

REAGENS TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A felbontott (használatban lévő) kit stabilitása

- Lízis oldószer:

Az első felnyitást követően 2-8 °C-on tárolva 60 napig eltartható. Használat közben ne tárolja 30 óránál hosszabb ideig szobahőmérsékleten.

- Reagens 1 és 2:

Hűtött automatán tárolva 28 napig stabil, amennyiben kontamináció nem alakul ki. Ha az automatából eltávolítja, tárolja 2-8 °C-on. 28 nap után a reagenseket ki kell dobni.

A fel nem bontott kit stabilitása

2-8°C-on a fel nem nyitott összetevők a címkén található lejárati dátumig tarthatók el.

A reagenseket nem szabad lefagyasztani.

Megjegyzések

- A kit összetevőit tárolja 2-8 °C közötti hőmérsékleten.
- A reagensek felhasználásra készek.
- Ne használja a reagenseket a lejárati idő után.
- NE FAGYASSZA LE A REAGENSEKET.**
- Használat után helyezze vissza a reagenseket 2-8°C-os tárolóba, ha nem tudja a készülékben tárolni.
- Ne keverjen különböző gyártási tételszámú reagenseket.
- Kerülje a reagensek beszennyezését, minden reagenshez és mintához használjon új eldobható pipettahegyet.
- A reagenseknek tisztának, szemcsés anyagoktól mentesnek kell lenniük, zavarosság esetén ki kell dobni.

A leromlás jelei

A kit bármely összetevőjében megjelenő zavarosság vagy kicsapódás a leromlás jele, ezért azt az összetevőt ki kell dobni. Az Axis-Shield HbA1c kontrolloknak az ajánlott elfogadható tartományon kívüli értékei a reagensek instabilitásának jele lehet, így az ehhez tartozó eredmények érvénytelenek. Ilyen esetben a mintákat újra kell tesztelni.

MINTAGYŰJTÉS, TÁROLÁS ÉS KEZELÉS

Mintagyűjtés és kezelés

- A minták gyűjtésére és előkészítésére csak megfelelő csöveket és gyűjtőkönténereket használjon.
- Csak alábbi minták kerületek ellenőrzésre és találtattak használatra megfelelőnek:
 - Dikálium- EDTA (K2-EDTA)
 - Lítium-heparin (Li-heparin)
- Másmilyen mintagyűjtő csövek nem kerültek ellenőrzésre.
- Na használjon hő-inaktívált, gyűjtött, nyilvánvalóan fertőzött mintákat.
- A keresztszennyeződés elkerülése érdekében óvatosan kezelje a paciensek mintáit. Ajánlott eldobható pipettákat és pipettahegyeket

használni. Vizsgálat előtt egy pálcával távolítsa el a buborékokat. A keresztzennyezés elkerülés érdekében minden mintához másik pálcát használjon.

A mérésre történő előkészítés

- A minták feldolgozása során kövesse a mintagyűjtő cső gyártójának előírásait,
- Minden humán mintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni. Ajánlott ezen anyagokat a helyi/országos laboratóriumi biztonsági irányelveknek megfelelően kezelni.
- Friss, illetve nem fagyasztott minták:
 - Ne centrifugálja a friss, illetve nem fagyasztott mintákat.
 - Használat előtt alaposan keverje meg a mintákat.
- Fagyasztott minták:
 - Hagyja a mintákat kiolvadni min. 30 percig.
 - A felolvasztott mintákat alaposan, 4-szeri megforgatással keverje meg.
 - Vizuálisan ellenőrizze a mintákat. Ha fázisátmenetet vagy folyadékszinteket talál, folytassa a keverést, amíg az oldat homogén nem lesz.
 - Az eredmények konzisztenciájának biztosítása érdekében a fagyasztott, majd kiolvasztott mintákat a vizsgálat előtt 5 percig min. 10 000 RCF-en (relatív centrifugális erő) centrifugálja.

Hemolizátum manuális készítése

A HbA1c szintjének meghatározásához a mintákból hemolizátumot kell készíteni:

- Mérjen ki 1 ml lízis oldószert megfelelően felcímkézett csövekbe. Megjegyzés: erre alkalmas méretű műanyag vagy üvegcsövek megfelelőek.
- Mérjen ki 10µl-t az összekevert teljes vérből a megfelelően felcímkézett lízis reagens csövekbe.
- Fél perces vortexeléssel keverje alaposan össze a folyadékot.
- Hagyja állni a mintákat 2 percre, hogy a lízis teljes mértékben bekövetkezzen.
- Használat után a lízis oldószert üvegét azonnal zárja vissza.

Minták tárolása és stabilitása

- A vérminták stabilak maradnak:
 - 6 óráig szobahőmérsékleten
 - 5 napig 2-8°C-on vagy 14 napig -20°C-on
 - Kerülje a többszöri felolvasztást-lefagyasztást.
- A hemolizátumok stabilak maradnak:
 - 6 óráig szobahőmérsékleten
 - 5 napig 2-8°C-on,
 - 3 hétig -20°C-on
 - Kerülje a többszöri felolvasztást-lefagyasztást.
 - Az automatán tárolva a vizsgálatot 2 órán belül el kell végezni.

A VIZSGÁLAT MENETE

- Alkalmazza az automatán a megfelelő, készülékspecifikus protokollt. Lásd Analitikai eljárás fejezet.
- A reagenseket és mintákat a készülék előírásainak megfelelően töltsön be.

STANDARDIZÁCIÓ

Az Axis-Shield HbA1c teszt visszavezethető a Nemzetközi Klinikai Kémiai Szövetség (IFCC) referencia standardjaira.

KALIBRÁCIÓ

A teszt kalibrálásához használja az Axis-Shield kalibrálókat a szükséges anyagokra vonatkozó fejezetnek megfelelően.

A kalibrálókhoz tartozó értékek gyártási tételtől függően és a címkén található meg.

A kalibráció gyakorisága:

A kalibráció max. 14 napig stabil.

Újra kalibrálás szükséges az alábbi esetekben: a reagens gyártási tételének cseréje, ha a kontroll a tartományon kívülre kerül, illetve amennyiben minőségellenőrzési eljárások után szükséges.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS

A teszt minőségbiztosításához használja az Axis-Shield kontrollokat a szükséges anyagokra vonatkozó fejezetnek megfelelően. A készülék karbantartását és kalibrálását a vonatkozó használati utasításnak megfelelően kell elvégezni.

A felhasználónak biztosítani kell, hogy teljes mértékben ismerje a teszt használatára vonatkozó utasításokat, különösen a figyelmeztetéseket és óvintézkedéseket, valamint a minták kezelésére és az eljárás korlátaira vonatkozó részeket. Ajánlott az Axis-Shield HbA1c kontrollokat és kalibrálókat a mindennapi használatban duplikátumokban használni.

A kontroll határokat minden laboratóriumnak egyénileg kell megállapítania a helyi minőségbiztosítási eljárásoknak, valamint a helyi vagy országos irányelveknek megfelelően.

EREDMÉNYEK

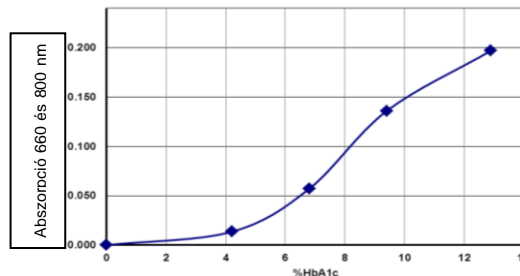
Mértékegység

A vizsgálat alapértelmezett mértékegysége: HbA1c %.

Az eredmények más mértékegységre az alábbi képletek segítségével számíthatók át:

- NGSP HbA1c%-ról IFCC mmol/mol-re: $[HbA1c\% \times 10,93] - 23,50$
- IFCC mmol/mol-ről NGSP HbA1c%-ra: $[mmol/mol \times 0,09148] + 2,152$

A HbA1c értékek spline adatredukciós eljárással kerültek kiszámításra a kalibrációs görbe meghatározásához. Egy példagörbe alább található:



MÉRÉSI TARTOMÁNY

A teszt analitikai mérési tartománya a funkcionális szenzitivitás értékétől a legmagasabb koncentrációjú (%HbA1c) kalibráló koncentrációjáig terjed. Az Axis-Shield HbA1c teszt mérési tartománya: 4,0%-tól 13,0%-ig (*) terjed.

(*) Az értékek a specifikus kalibráló gyártási tételtől függően változhatnak, ezért ezt figyelembe kell venni a készülék teszt tartományának megadásakor. Ez a tartomány a tipikus magas koncentrációjú kalibráló értékének megfelelően lett megadva.

A mérési tartomány feletti mintákat **TILOS** hígítani. Ezen mintákat más módszerrel kell mérni.

VÁRT ÉRTÉKEK

A diabéteszes betegek monitorozása esetén ajánlott a glikémiás célokat az aktuális szakmai szervezetek ajánlásainak⁴⁺ megfelelően egyénileg meghatározni. Az Amerikai Diabétesz Társaság (ADA) ajánlásait az alábbi táblázatban foglaltuk össze.

HbA1c érték	Glikémiás cél
< 8% HbA1c (64 mmol/mol)	Kevésbé szigorú
< 7% HbA1c (53 mmol/mol)	Általános (nem terjesztett felnőttek)
< 6,5% HbA1c (48 mmol/mol)	Szigorúbb

Az ADA ajánlásainak megfelelően az 5,7-6,4 HbA1c%-os (39-46 mmol/mol) tartományban lévő betegek esetében a diabétesz kockázata emelkedett⁴.

AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

- A hemoglobinopátiák befolyásolhatják a glikált hemoglobin szintjének mérését. A tesztet ellenőrizték a gyakori hemoglobin-variánsokra. Lásd a Specificitás fejezetet.
- Nem kizárható, hogy más, nem ellenőrzött anyagok, illetve faktorok befolyásolhatják a tesztet (lásd Kölcsönhatások fejezet).
- Ez a teszt nem alkalmas:
 - A diabétesz diagnózisának felállítására.
 - Nem helyettesíti a vér és vizelet glükóz-szintjének napi mérését.
 - A 8 g/dl-nél alacsonyabb összehaemoglobin-szinttel rendelkező betegek vizsgálatára a álnegativitás veszélye miatt.
 - Olyan betegek mintáinak vizsgálatára, akik a vvt-t élettartamának rövidülésével járó betegségtől szenvednek (pl. hemolitikus anémia vagy más hemolitikus betegségek), vagy jelentős akut vagy krónikus vérzésük van, illetve várandósok.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK:

Ezen fejezetben található reprezentatív adatok ADVIA 2400 készüléken kerültek meghatározásra, az egyes laboratóriumok valós adatai ettől különbözőek lehetnek.

Más készülék alkalmazások teljesítménye nem került ellenőrzésre, ezt a felhasználónak kell elvégeznie.

FUNKCIONÁLIS SZENZITIVITÁS

Vizsgálat került elvégzésre a teszt működésének ellenőrzésére alacsony HbA1c szintek esetén. Összesen 3 alacsony koncentrációjú minta került meghatározásra (n=20) 3 különböző alkalommal, valamint 3 gyártási tételből származó Axis-Shield HbA1c reagenssel. A minták koncentrációja 2,9 és 4,6 HbA1c% között volt. Az SD minden minta esetében 0,24 HbA1c% alatt volt.

Az Axis-Shield HbA1c teszt funkcionális szenzitivitása: 4,0 HbA1c%.

PRECIZITÁS

Teljes teszt imprecizitás vizsgálat került elvégzésre egy külső tanulmány keretében belül kontrollokon és humán teljes vér mintákon. Minden minta duplikátumban került mérésre (n=2) 20 napon keresztül, napi 2 különböző időpontban, 3 gyártási tételből származó Axis-Shield HbA1c reagenssel. Egy gyártási tételű reagens felhasználásával mért minták adatai az alábbi táblázatban találhatóak.

Minta	n	Átlag (%)	Teljes imprecizitás	
			SD (HbA1c%) (95% CI)	Rel. szórás% (95% CI)
Alacsony koncentrációjú kontroll	80	6,17	0,218 (0,177 – 0,283)	3,5 (2,9% - 4,6%)
Magas koncentrációjú kontroll	80	9,97	0,587 (0,484 – 0,74)	5,9 (4,9% – 7,5%)
Humán vér #1	80	6,32	0,254 (0,207 – 0,329)	4,0 (3,3% - 5,2%)
Humán vér #2	80	7,60	0,317 (0,273 – 0,378)	4,2 (3,6% - 5,0%)
Humán vér #3	80	8,57	0,366 (0,313 – 0,441)	4,3 (3,6% - 5,1%)

LINEARITÁS

Linearitási vizsgálat került elvégzésre egy magas HbA1c% koncentrációjú minta alacsony koncentrációjú mintával történő többszöri hígításával. A vizsgálatot 3 gyártási tételből származó AXIS-SHIELD HbA1c reagens kittel végezték.

Az Axis-Shield HbA1c teszt az 5,5% - 11% HbA1c tartományban lineárisnak bizonyult.

MÓDSZER ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Korrelációs vizsgálat került elvégzésre a a vizsgálati tartományba eső humán teljes vér mintákon. A mintákat 3 gyártási tételből származó AXIS-SHIELD HbA1c reagens kittel, illetve két, kereskedelemben elérhető HbA1c teszttel (egy immunoassay, és egy kapilláris elektroforézis módszerrel) vizsgálták meg. Az értékeket Passing-Bablok regressziós módszerrel elemezték, a korrelációt Pearson (r) regressziós módszerrel határozták meg. A következő eredmények születtek:

- Immunoassay módszerek összehasonlítása

Gyártási tétel	Minta tartomány (HbA1c%)	n	Korrelációs együttható (r)	Merekség (95% CI)	Metszési pont (95% CI)
1	4,2% - 12,6%	154	0,968	0,99 (0,96 – 1,02)	0,76 (0,58 – 0,95)
2	4,2% - 12,6%	154	0,968	0,94 (0,91 – 0,99)	1,00 (0,72 – 1,27)
3	4,2% - 12,6%	154	0,976	0,98 (0,95 – 1,02)	0,77 (0,52 – 0,99)

- Kapilláris elektroforézis módszer összehasonlítás

Gyártási tétel	Minta tartomány (HbA1c%)	n	Korrelációs együttható (r)	Merekség (95% CI)	Metszési pont (95% CI)
1	4,4% - 13,0%	157	0,973	0,95 (0,92 – 0,98)	0,45 (0,25 – 0,66)
2	4,4% - 13,0%	158	0,964	0,92 (0,88 – 0,96)	0,59 (0,28 – 0,91)
3	4,4% - 13,0%	158	0,976	0,94 (0,90 – 0,98)	0,54 (0,27 – 0,80)

KÖLCSÖNHATÁSOK

Az alábbi anyagok kerültek hozzáadásra két, különböző HbA1c%-os koncentrációjú (6-7%, ill. 8-9%) humán teljes vér mintához a teszttel való kölcsönhatás meghatározására a referenciamintákhoz képest.

A anyagok egyike sem mutatott a megjelölt koncentráció mellett kölcsönhatást (a koncentráció min < ±10%-os változását) az Axis-Shield HbA1c teszttel:

Potenciálisan kölcsönha anyagok	Legmagasabb, kölcsönhatást nem mutató koncentráció
Bilirubin (konjugált és nem konjugált)	38 mg/dl
Trigliceridek	1000 mg/dl
Rheumatoid faktor	600 U/ml
Összfehérje	14 g/dl
Aszkorbinsav	50 mg/dl

Óvatosan kell eljárni azon betegek mintái esetében, akik korábban diagnosztikai vagy terápiás célból egér monoklonális ellenanyagot kaptak, mivel a vérükben anti-egér ellenanyagok (HAMA) lehetnek jelen. A HAMA-tartalmú minták nem várt vizsgálati eredményeket mutathatnak, mivel ez a tesztegér ellenanyagokat használ.⁵

SPECIFICITÁS

Hemoglobin (Hb) derivátumok

A Hb labilis frakciói, az acetilált, vagy karbamilált Hb nem befolyásolja ezt a tesztet.

Két, különböző HbA1c%-os koncentrációjú (6-7%, ill. 8-9%) humán teljes vér minta került vizsgálatra Na-cianát, acetil-szalicilát, glükóz, valamint urea fiziológiás, vagy ajánlott tesztkoncentrációjának jelenlétében. A teszt nem mutatott hibát (a koncentrációtól való max. eltérés <±10%a referencia mintához képest) egyik esetben sem.

Hemoglobin-variánsok

A következő variánsok nem zavarják a tesztet: HbS, HbC, HbD, HbA2, HbE és HbF. Más variánsok nem kerültek vizsgálatra.

A Hb variánsok magas koncentrációja esetén a HbA1c vizsgálat eredményét körültekintően kell értelmezni.







SZAKIRODALOM

- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1993;329(14):977-86
- Lester E. The clinical value of glycated haemoglobin and glycated plasma proteins. *Ann Clin Biochem* 1989;26: 213-9.
- Goldstein DE, Little RR, Weidmeyer H-M, et al. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 1986; 32(10):B64-B70.
- American Diabetes Association. Position Statement: Standards of Medical Care in Diabetes - 2012. In: *Diabetes Care* 2012;35 (Suppl 1):S11-S63.
- Primus FJ, Kelley EA, Hansen HJ, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem* 1988;34(2):261-264.

TIPIKUS ANALITIKAI ELJÁRÁS

Lizált teljes vér térfogata:	4 µl
Reagens 1 térfogata:	150 µl
Inkubációs idő:	5 perc
Reagens 2 térfogata:	60 µl
Inkubációs idő:	5 perc
1. leolvasási idő:	20 mp (15-25 mp)
2. leolvasási idő:	300 mp (270-330 mp)
Hullámhossz:	660 nm (640-680 nm)
Hőmérséklet:	+ 37 C
Reakció típusa:	Végpont
Számítási mód:	Spline
Kalibrációs modell:	Multipoint

A készülék programozási utasításai a vonatkozó felhasználói kézikönyvben találhatóak.

REF	Termékkód
IVD	<i>In vitro</i> diagnosztikai eszköz
LOT	Gyártási tételszám
	Tesztek száma
	Olvassa el a használati utasítást
	Gyártó
GTIN	Globális kereskedelmi áruazonosító
	Felhasználható
	Tárolja 2-8°C között
	FIGYELEM
REAG 1	Reagens 1
REAG 2	Reagens 2
LYSIS DILUENT	Lízis oldószer



Axis-Shield Diagnostics Ltd.,
The Technology Park,
Dundee, DD2 1XA
United Kingdom
Tel: +44 (0) 1382 422000
Fax: +44 (0) 1382 422088



EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)

Schiffgraben 41,
30175 Hannover,
Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630

Fax: + (49) 511 6262 8633

RPBL1087/R3

Ver 2019/09