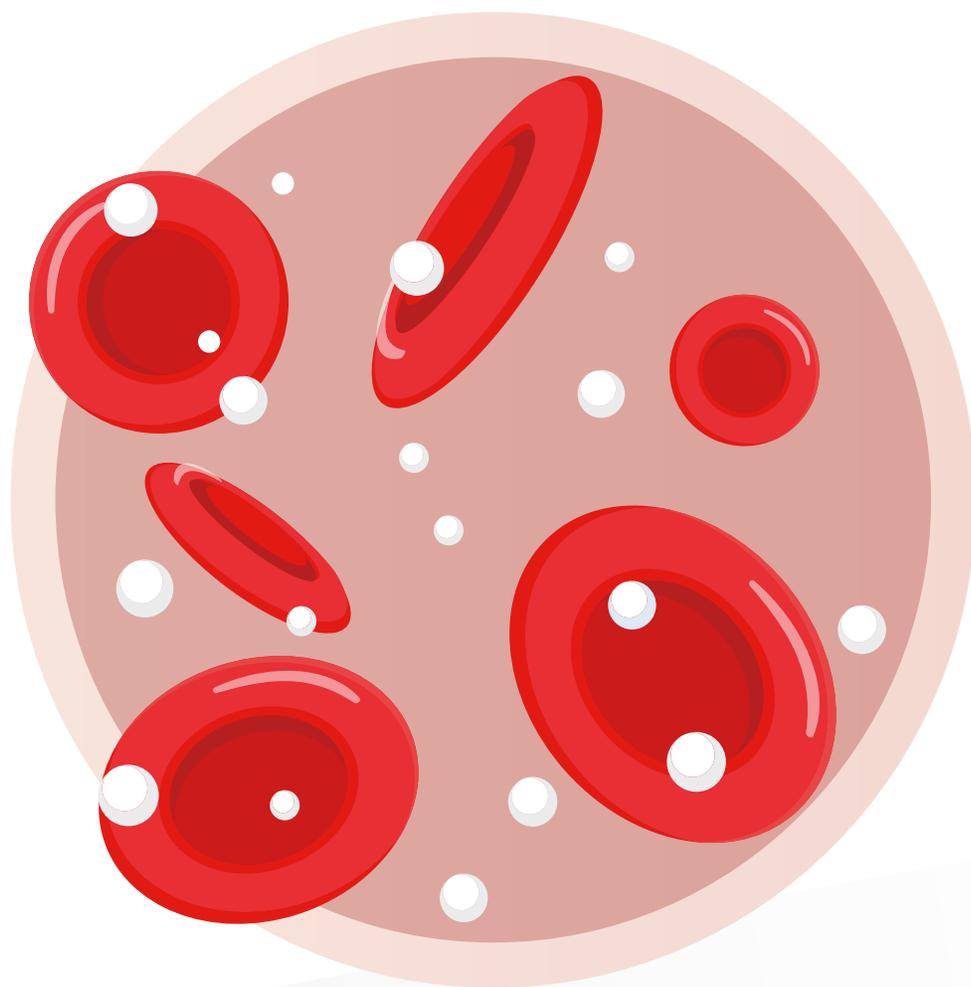


# ChemBook

Принципы измерения биохимических анализаторов  
Mindray, обеспечивающие надежный результат  
анализа для измерения концентрации  
гликогемоглобина (HbA1c)



# Содержание

<b>Глава 1</b> .....	<b>01</b>
HbA1c: Основной маркер при лечении сахарного диабета	
<b>Глава 2</b> .....	<b>04</b>
Исключение интерференции при определении концентрации HbA1c с помощью ферментативного теста Mindray	
<b>Глава 3</b> .....	<b>07</b>
Карбамелированный гемоглобин и лабильный гликогемоглобин являются критическими показателями при определении концентрации HbA1c	
<b>Глава 4</b> .....	<b>11</b>
Сравнительное исследование методов определения HbA1c и ферментативного метода Mindray	

# HbA1c:

## Основной маркер при лечении сахарного диабета

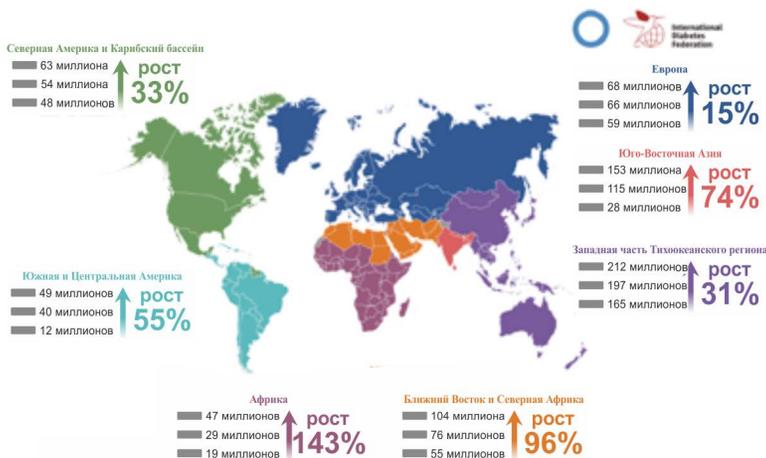


Сахарный диабет (СД) представляет собой глобальную медицинскую проблему. Согласно Международной диабетической федерации (IDF), в 2019 году у каждого 11 взрослого (в возрасте от 20 до 79 лет) имелся сахарный диабет (СД), и по мере происходящих в обществе изменений и старения населения эта доля населения неуклонно растет. [1] К осложнениям СД относятся, в частности, нефропатия, ретинопатия и ишемическая болезнь сердца.

для определения концентрации глюкозы в плазме натощак и для определения концентрации глюкозы в плазме через 2 часа после еды. Среди них при лечении сахарного диабета анализ для определения концентрации гликогеоглобина (HbA1c) повсеместно считается основным видом исследования.

### Диагностика сахарного диабета

По данным IDF в мире насчитывается около 232 миллионов человек с невыявленным СД. Согласно многочисленным клиническим руководствам, среди тех, кто страдает определенными заболеваниями (и даже среди тех, у кого такие заболевания еще не были выявлены) должен проводиться скрининг на СД, и, в этой связи, анализ для определения концентрации HbA1c оказывается одним из наиболее подходящих видов исследования. В отличие от анализов для определения концентрации глюкозы, на точность определения уровня HbA1c не влияет недавний прием пищи, поэтому пациентам не нужно проходить исследование натощак или принимать определенное количество глюкозы непосредственно перед анализом. С учетом истории болезни и дополнительных данных врачи могут поставить диагноз «сахарный диабет», если уровень HbA1c у пациента соответствует критериям.



Прогнозируемое количество людей (в возрасте от 20 до 79 лет), страдающих диабетом во всем мире [1]

Своевременная диагностика, правильное лечение и гликемический контроль крайне важны для лечения сахарного диабета. В результате на практике были внедрены многие лабораторные тесты, в частности, анализы для определения концентрации гликогеоглобина (HbA1c), гликированного белка (фруктозамин, FUN),

	HbA1c	Уровень глюкозы в плазме натощак	Уровень глюкозы в плазме через 2 часа после еды
<b>Диабет</b>	≥6.5% или ≥48 ммоль/моль	≥126 мг/дл или ≥7.0 ммоль/л	≥200 мг/дл или ≥11.1 ммоль/л
<b>Преддиабетическое состояние</b>	5.7-6.4% или 39-47 ммоль/моль	100-125 мг/дл или 5.56-6.9 ммоль/л	140-199 мг/дл или 7.8-11.0 ммоль/л
<b>Норма</b>	<5.7% или <39 ммоль/моль	<100 мг/дл или <5.56 ммоль/л	<140 мг/дл или <7.8 ммоль/л

Критерии Американской диабетической ассоциации (ADA) [3]

## Терапевтический мониторинг

После постановки диагноза пациенты получают необходимое лечение, в частности, им рекомендуется изменение образа жизни, прием лекарств и/или инъекции инсулина. Независимо от выбранного метода лечения, мониторинг имеет решающее значение в комплексном лечении этого заболевания. Поскольку анализ для определения концентрации HbA1c позволяет определить средний уровень глюкозы в крови на протяжении примерно 3 месяцев, во многих медицинских руководствах приводятся целевые значения HbA1c для проведения гликемического контроля. Эти целевые значения можно использовать для оценки терапевтического эффекта.

### Рекомендуемые ААСЕ целевые значения уровня глюкозы у небеременных взрослых пациентов<sup>[4]</sup>

Значения зависят от возраста, сопутствующих заболеваний и продолжительности СД

- ≤6.5% для большинства пациентов
- Ближе к норме в случае здоровых взрослых
- Большой диапазон в случае «менее здоровых» взрослых

ААСЕ, Американская ассоциация клинических эндокринологов

### Рекомендуемые ADA целевые значения уровня глюкозы у небеременных взрослых пациентов<sup>[5]</sup>

• <6.5% в случае пациентов, соответствующих следующим критериям:

- Незначительная продолжительность заболевания
- Большая ожидаемая продолжительность жизни
- Отсутствие сопутствующих заболеваний
- Целевой уровень может быть достигнут без значительной гипогликемии или других побочных эффектов лечения

• <7.0%, оптимальный целевой уровень для многих пациентов

• <8.0% в случае пациентов, соответствующих следующим критериям:

- Тяжелая гипогликемия в анамнезе
- Ограниченная ожидаемая продолжительность жизни
- Прогрессирующие микрососудистые или макрососудистые изменения
- Большое количество сопутствующих заболеваний
- Значительная продолжительность СД 2 типа, при котором целевого уровня HbA1c было трудно достичь, несмотря на огромные усилия

Уровень содержания гликогемоглобина (HbA1c) - это идеальный маркер для оценки эффективности гликемического контроля. Даже небольшое снижение уровня HbA1c может значительно уменьшить риск заболеваемости и смертности от СД. Частота анализов: каждые 6 месяцев - в случае пациентов с адекватным гликемическим контролем и каждые 3 месяца - в случае пациентов с неадекватным контролем или пациентов, которые вносят изменения в режим лечения.<sup>[6]</sup>



Распространенные осложнения СД и значимость снижения уровня HbA1c<sup>[7,8]</sup>

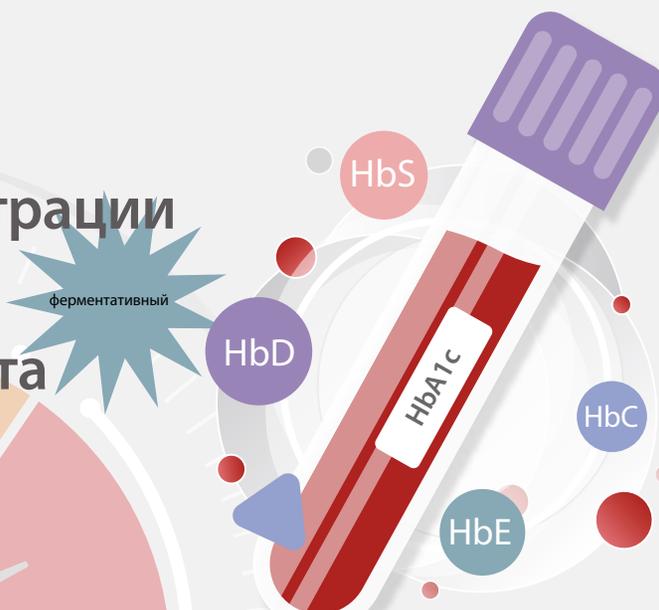
## Заключение

С того момента, когда HbA1c был впервые выделен в 1958 году, серия исследований доказала его высокую значимость для диагностики и контроля СД. Гликогемоглобин является основным маркером, рекомендованным множеством руководств, при этом анализ для определения концентрации HbA1c обеспечивает большее удобство для пациентов, большую скорость работы лаборантов и более высокую надежность результатов для врачей при определении характера лечения.

## Цитируемые источники

- [1] ДИАБЕТИЧЕСКИЙ АТЛАС IDF 2019 [www.diabetesatlas.org/en/](http://www.diabetesatlas.org/en/)
- [2] Pippitt, K. & Li, M. Diabetes Mellitus: Screening and Diagnosis (Сахарный диабет: Скрининг и диагностика). Diabetes Mellitus 93, 7 (2016).
- [3] American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2020 (Американская диабетическая ассоциация. Классификация и диагностика диабета: Стандарты медицинской помощи при диабете - 2020). Diabetes Care 43, S14 (2020).
- [4] Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay JI и соавт. Consensus statement by the American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology on the comprehensive type 2 diabetes management algorithm—2017 executive summary (Консенсусное заявление Американской ассоциации клинических эндокринологов и Американской коллегии эндокринологов по алгоритму комплексного лечения диабета 2 типа - резюме 2017 г.). Endocr Pract 2017; 23(1): 207-38.
- [5] American Diabetes Association. Glycemic Targets: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. (Американская диабетическая ассоциация. Целевые гликемические уровни: Стандарты медицинской помощи при диабете - 2020). Dia Care 43, S66-S76 (2020).
- [6] HbA1c Testing Frequency: A Review of the Clinical Evidence and Guidelines [Internet] (Частота анализов для определения концентрации HbA1c: обзор клинических данных и рекомендаций [Интернет]). Оттава (провинция Онтарио): Канадское агентство по лекарственным средствам и технологиям в области здравоохранения; 2014, 26 сентября.
- [7] United Kingdom Prospective Diabetes Study Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33) (Группа проспективных исследований диабета в Соединенном Королевстве: Интенсивный контроль уровня глюкозы в крови с помощью сульфонилмочевины или инсулина по сравнению с традиционным лечением и риск развития осложнений у пациентов, страдающих диабетом 2 типа (UKPDS 33)). Lancet 352: 837-853, 1998
- [8] Stratton IM и соавт. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study (Связь гликемии с макрососудистыми и микрососудистыми осложнениями при диабете 2 типа (UKPDS 35): проспективное обсервационное исследование). BMJ 321:405-412, 2000

## Исключение интерференции при определении концентрации HbA1c с помощью ферментативного теста Mindray



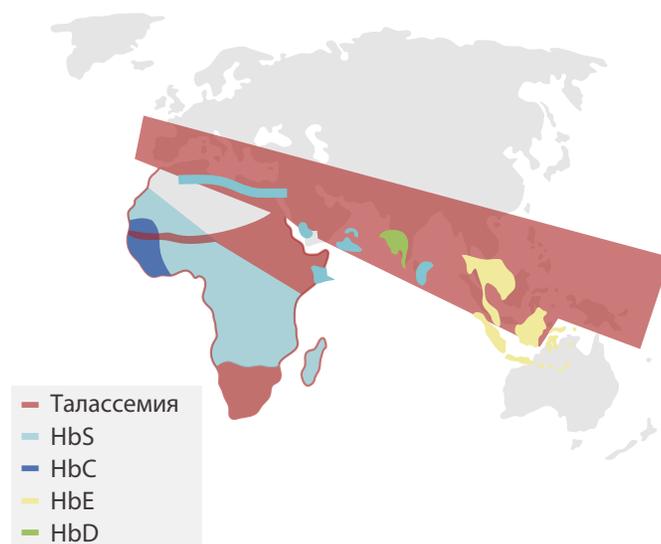
Анализ для определения концентрации HbA1c, впервые выделенного в 1958 году, быстро становится основным видом исследований при скрининге, диагностике и терапевтическом мониторинге сахарного диабета. Будучи повсеместно признанным стандартным инструментом клинической практики, он имеет множество преимуществ, к которым, в частности, относится отсутствие необходимости проходить исследование натощак, простота использования и возможность оценить эффективность гликемического контроля в течение 3-4 месяцев.

Варианты	Место	Замещение	Сдвиг массы (Da)
HbS	$\beta 6$	Глюкоза - Валин	-29,9745
HbC	$\beta 6$	Глюкоза - Валин	-0,9476
HbE	$\beta 26$	Глюкоза - Валин	-0,9476
HbD	$\beta 121$	Глюкоза - Валин	-0,9840

Структуры распространенных вариантов гемоглобина<sup>[2]</sup>

### Влияние вариантов гемоглобина на точность анализа

Рабочая группа IFCC определила HbA1c как гемоглобин, который необратимо гликирован по одному или обоим N-концевым валинам бета-цепей. [1] В таких распространенных вариантах гемоглобина, как HbS, HbC, HbE и HbD, наблюдается замещение отдельных аминокислот в бета-цепях. В результате каждый из этих вариантов гемоглобина, в зависимости от используемого метода, может снизить точность результатов анализа для определения концентрации HbA1c вследствие аналитической интерференции. В противном случае, может быть получено значение HbA1c, которое, с клинической точки зрения, вводит врача в заблуждение из-за наличия биологических переменных, влияющих на интерпретацию результата анализа.

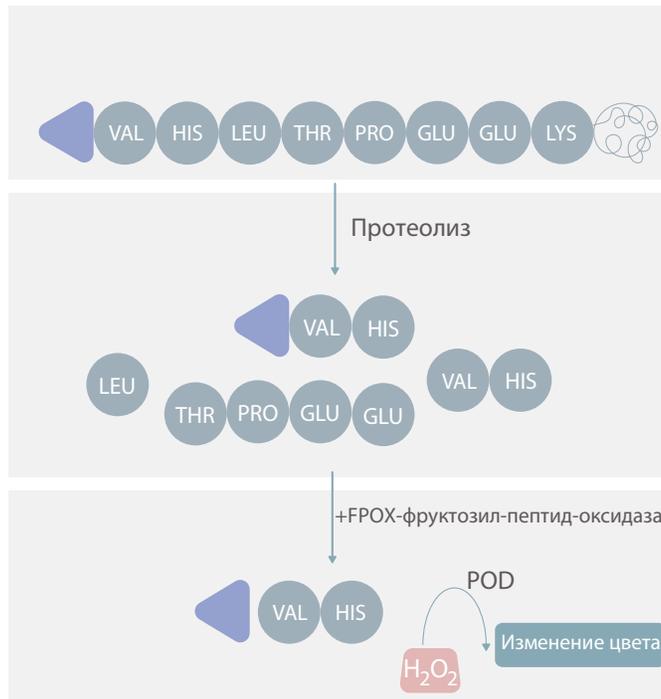


Распределение наиболее распространенных вариантов гемоглобина<sup>[3]</sup>

## Биохимический метод анализа для определения концентрации HbA1c, разработанный Mindray

Среди всех методов анализа для определения концентрации HbA1c специалисты по биохимии Mindray выбрали ферментативный метод в силу определенных методологических преимуществ. Одним из таких преимуществ является возможность предотвратить интерференцию вариантов гемоглобина.

При применении ферментативного метода пробы цельной крови лигируются и подвергаются обширному протеолитическому расщеплению. В ходе этого процесса высвобождаются аминокислоты, а именно - гликированные N-концевые аминокислоты из бета-цепей гемоглобина. Сигнал, производимый гликированными N-концевыми аминокислотами в ходе последующей хромогенной реакции, используется для расчета HbA1c. Наличие вариантов гемоглобина аналитически не влияет на этот метод. [4]



◀ Глюкоза ● Аминокислота

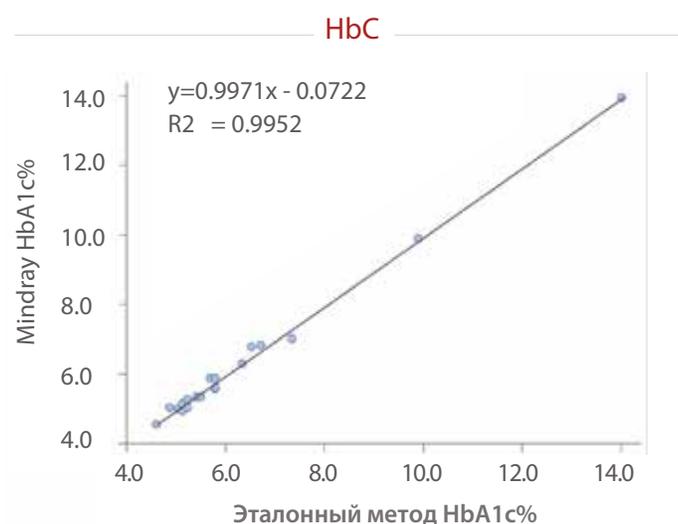
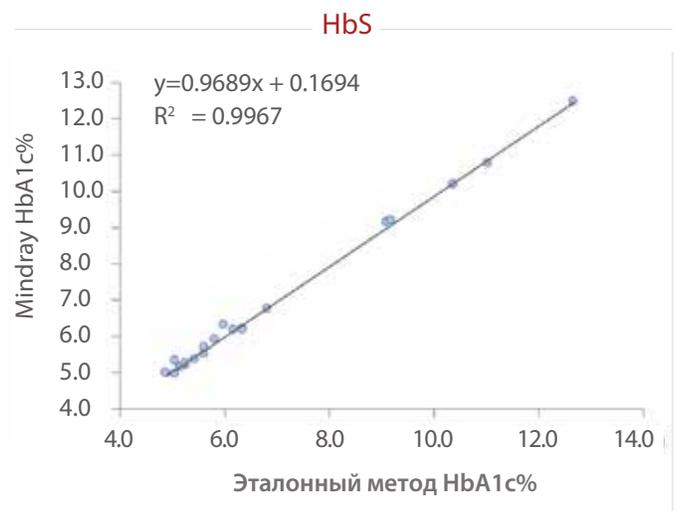
Ферментативный анализ для измерения уровня HbA1c

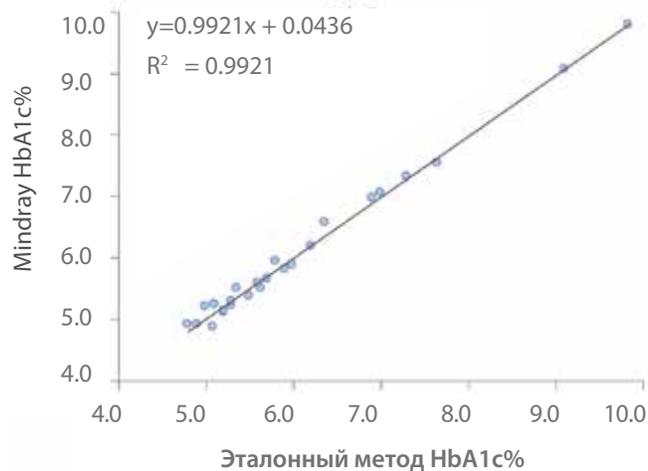
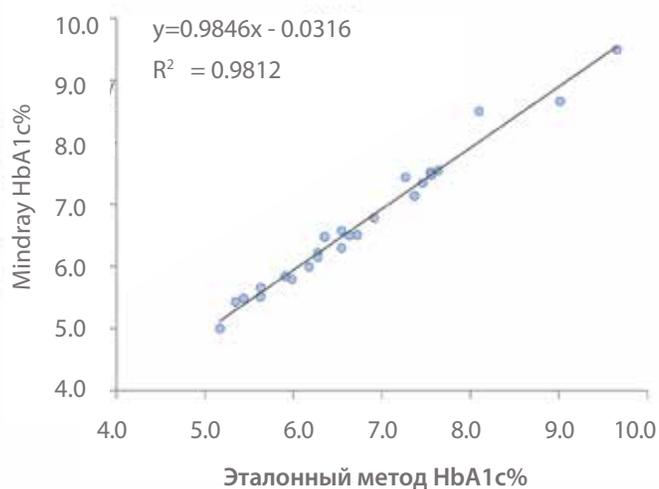
## Исключение интерференции при определении концентрации HbA1c с помощью ферментативного теста Mindray

Чтобы продемонстрировать возможность исключения интерференции, мы провели внутреннее исследование. Пробы были получены в Медицинском центре королевы Беатрикс в Нидерландах, в котором находятся Европейская референсная лаборатория по гликогемоглобину и основные референсные лаборатории для стандартизации HbA1c. Значения HbA1c

определялись с помощью прибора для аффинной хроматографии, откалиброванного согласно требованиям IFCC. Процентное содержание HbS, HbC, HbE и HbD определялось с помощью капиллярного электрофореза и ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание HbA1c (в процентах согласно национальной программе стандартизации гликогемоглобина, NGSP%) измерялось с помощью биохимического анализатора BS-800M. В случае HbS, HbC, HbE и HbD не наблюдалось значительной (т.е. свыше  $\pm 5,0\%$ ) погрешности в связи с интерференцией. Были проанализированы данные, полученные Mindray, и целевое значение, определенное Европейскими основными референсными лабораториями, эти данные приведены в следующей таблице и отражены на диаграммах:

Варианты	N	Диапазон (%Варианта)	Диапазон (%HbA1c)	Относительная погрешность (смещение диапазона)	
				~6% HbA1c	~9% HbA1c
HbS	20	33~42%	4.9~12.7%	-0.2% (-3.2%~4.9%)	-0.1% (-0.2%~0.4%)
HbC	20	28~97%	4.6~14.0%	-1.8% (-4.3%~1.9%)	-2.8% (-5.0%~0.6%)
HbE	25	19~94%	4.9~9.8%	-0.4% (-2.3%~3.4%)	-0.5% (-0.5%~0.4%)
HbD	25	38~42%	5.2~9.7%	-1.2% (-3.3%~1.8%)	-0.3% (-3.8%~4.8%)



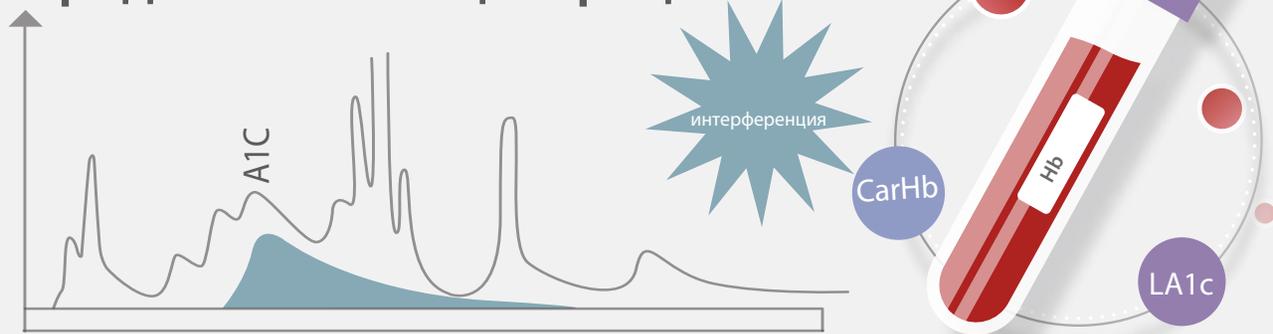
**НbE****НbD****Заключение**

HbA1c является основным маркером, рекомендованным множеством руководств, а анализы для определения концентрации HbA1c - очень важны для скрининга, диагностики и мониторинга диабета. Варианты гемоглобина, особенно четыре наиболее распространенные во всем мире (HbS, HbC, HbE и HbD), могут повлиять на результат анализа для определения концентрации HbA1c. Ферментативный метод, используемый в биохимических системах серии BS Mindray, помогает эффективно избежать интерференции этих вариантов.

**Цитируемые источники**

- [1] Вебсайт NGSP: Справочная система IFCC
- [2] Edwards, R. L., Martin, N. J. & Cooper, H. J. Hemoglobin variant analysis of whole blood and dried blood spots by MS (Анализ вариантов гемоглобина цельной крови и пятен сухой крови с помощью масс-спектрометрии). *Bioanalysis* 5, 2043-2052 (2013).
- [3] Tosoh Europe N.V.: Haemoglobinopathies - Pathology (Виды гемоглинопатии - Патология)
- [4] Rhea, J. M. & Molinaro, R. Pathology Consultation on HbA1c Methods and Interferences (Консультация патолога по методам анализа для определения концентрации HbA1c и вопросам интерференции). *American Journal of Clinical Pathology* 141,5-16 (2014).

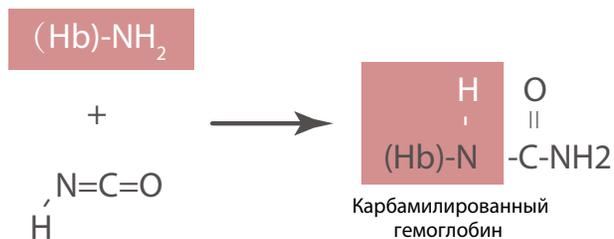
## Карбамелированный гемоглобин и лабильный гликогемоглобин являются критическими показателями при определении концентрации HbA1c



Гемоглобин A1c (HbA1c) является ключевым анализом при мониторинге гликемического баланса у пациентов, страдающих диабетом, и во многих странах используется для диагностики диабета. Возможное влияние карбамелированного гемоглобина (CarHb) и лабильного гликогемоглобина (LA1c) может привести к получению неточных результатов при определении концентрации HbA1c. Степень воздействия зависит от конкретного используемого метода анализа для определения концентрации HbA1c.

### Карбамелированный гемоглобин

Карбамелированный гемоглобин (CarHb), образующийся в результате связывания изоциановой кислоты (производной мочевины), выше у пациентов с хроническим заболеванием почек.<sup>[1]</sup>



Образование CarHb зависит от концентрации мочевины и продолжительности ее воздействия.<sup>[2]</sup>

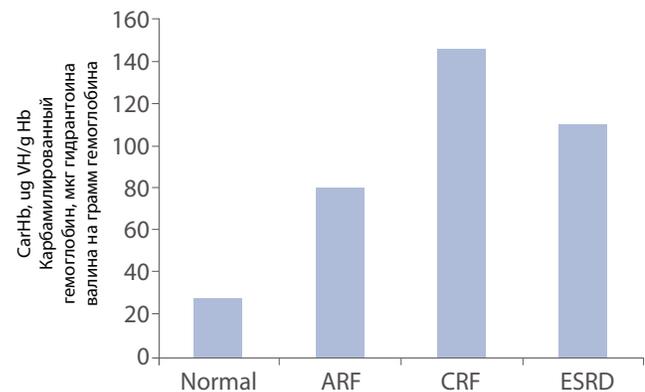


Рис. 1. Карбамелированный гемоглобин (CarHb) при острой почечной недостаточности (ARF/ОПН), хронической почечной недостаточности (CRF/ХПН), терминальной стадии почечной недостаточности (ESRD/ТПН) и у здоровых участников исследования (Normal/Норма). При применении дисперсного анализа различия между группами были статистически значимыми.<sup>[2]</sup>

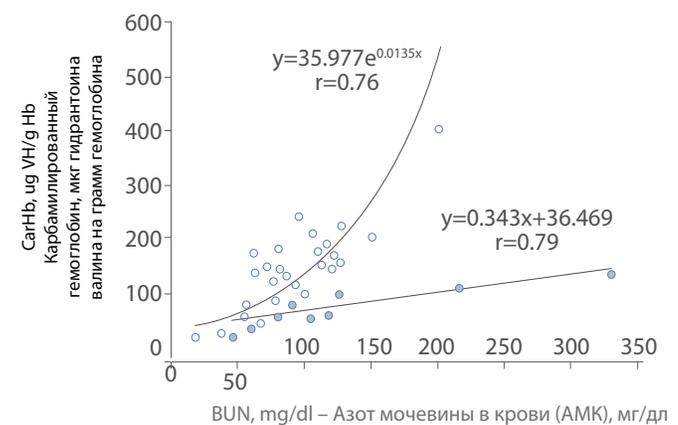


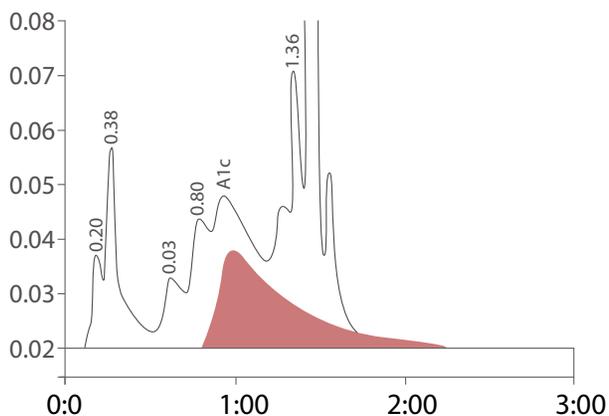
Рис. 2. График CarHb в зависимости от уровня АМК у пациентов с ОПН (●) и ХПН(○)

CarHb имеет такой же электрический заряд, что и HbA1c. При измерении с помощью ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) CarHb образует пик, который перекрывает пик HbA1c, что приводит к получению ложно завышенного результата при определении концентрации HbA1c.[3]

60-летний пациент, страдающий ишемической болезнью сердца, гипертонией и сахарным диабетом 2 типа, проходил лечение от сепсиса, вызванного острым повреждением почек. Уровень мочевины у него составлял 91 ммоль/л, а уровень креатинина - 2,52 ммоль/л. Уровень HbA1c, измеренный с помощью ВЭЖХ HbA1c, оценивался как очень высокий (21,9%), выходящий за пределы, при которых необходимо принятие мер.

Хроматограмма ВЭЖХ показала очень высокий пик карбамелированного гемоглобина - 12,1% (Рис. 3), что указывало на возможность положительного влияния на измерение уровня HbA1c. [4]

Название пика	Время удержания	Высота	Площадь	Площадь %
A1a	0.2	16526	58905	1.9
A1b	0.28	34839	202876	6.6
LA1c/CHb-1	0.63	13038	95742	3.1
LA1c/CHb-2	0.8	22825	375871	12.1
A1c	0.99	18096	555061	21.9
P3	1.36	51313	351875	11.4
Ao	1.43	420664	1453418	47



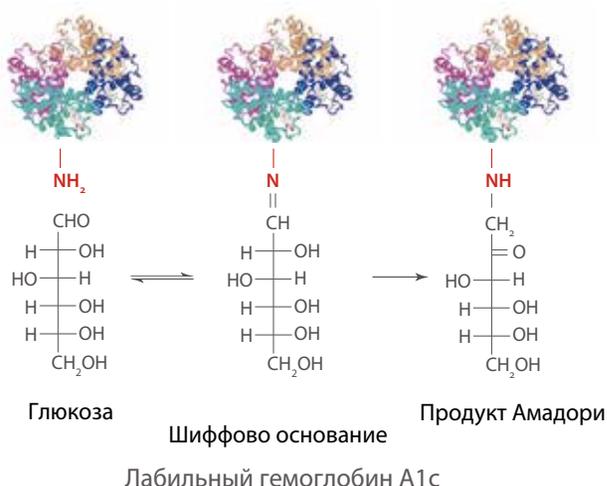
**Рис. 3.** Хроматограмма ВЭЖХ при анализе для определения концентрации HbA1c с высоким пиком карбамелированного гемоглобина, элюированного совместно с HbA1c (пик HbA1c выделен красным цветом)

Хроническая почечная недостаточность развивается у многих больных сахарным диабетом. При хронической почечной недостаточности уровень CarHb повышается еще заметнее, что может свидетельствовать о возможной интерференции при ВЭЖХ во время измерения уровня HbA1c.

Таким образом, разработчики тестов для определения концентрации HbA1c должны оценить возможность исключения интерференции CarHb при использовании тестов для определения концентрации HbA1c и дать соответствующие инструкции клиническим лабораториям.

## Лабильный гемоглобин A1c

Лабильный гемоглобин A1c (LA1c, также известный как пре-HbA1c или пре-гликогемоглобин), нестабильная форма, представляет собой шиффово основание, образующееся во время неферментативного гликирования гемоглобина. Концентрация лабильной фракции зависит от резкого изменения уровня глюкозы в плазме.



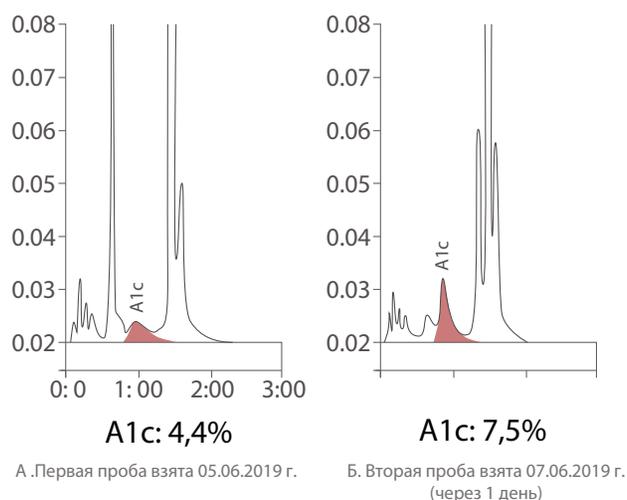
LA1c потенциально мешает оценке уровня HbA1c, вызывая ложно низкое значение, и может даже препятствовать быстрому назначению лечения, необходимого диабетикам, или задерживать его проведение. Это требует тщательного и детального изучения хроматограмм каждой пробы.

Влияние повышенного уровня LA1c на результаты анализа для определения концентрации HbA1c было изучено в ходе гликирования проб in vitro Авророй Десмон (Aurore Desmons) и коллегами (Таблица 1).

		Время инкубации (мин) с использованием 0,25 моль/л глюкозы.						
		0	15	17	22	27	30	45
Проба 1	HbA <sub>1c</sub> , ммоль/моль	33	31	30	30	28	27	25
	HbA <sub>1c</sub> %	5.2	5.0	4.9	4.9	4.7	4.6	4.4
	Пик, определенный как (LA <sub>1c</sub> ) %	1.2	3.1	3.4	4.0	4.5	4.8	6.3
Проба 2	HbA <sub>1c</sub> , ммоль/моль	65	64	64	62	61	60	56
	HbA <sub>1c</sub> %	8.1	8.0	8.0	7.8	7.7	7.6	7.3
	Пик, определенный как (LA <sub>1c</sub> ) %	1.3	3.1	3.1	4.0	4.6	4.8	6.2

Таблица 1. Влияние лабильного гликированного гемоглобина (LA<sub>1c</sub>) на изменение уровня HbA<sub>1c</sub> с помощью Variant II, на котором установлена программа Dual kit™

В статье под названием «Labile Hemoglobin - A Biochemical Entity/ Лабильный гемоглобин - биохимическое соединение» делается вывод о том, что при оценке уровня HbA1c с помощью метода ВЭЖХ следует тщательно учитывать LA1c, поскольку он является потенциальным источником преаналитических ошибок.



Хроматограмма пациента с диабетом в анамнезе показывает присутствие LA1c/CHb-1 и LA1c/CHb-2 общей площадью 10,7% и HbA1c площадью 4,4% по данным на 06.05.2019. Обнаружив низкое значение HbA1c, лаборатория обратилась к истории болезни пациента и выяснила, что пациент проходил лечение по поводу высокого уровня глюкозы в плазме четыре дня назад. Поскольку резкие изменения уровня глюкозы в плазме могут стать причиной повышения уровня LA1c, пациенту было рекомендовано повторить тест через один день. 19.07.2019 результат повторного анализа пробы показал присутствие LA1c/CHb-1 площадью всего лишь 1,9% и HbA1c площадью 7,5%.<sup>[5]</sup>

## Антиинтерференционное исследование CarHb и LA1c с использованием реагента Mindray для определения концентрации HbA1c ферментативным методом

Целью этого исследования была оценка влияния CarHb и LA1c на ферментативный анализ для определения концентрации HbA1c, разработанный Mindray.



Рис. 5. Процедуры карбамирания и гликирования in vitro

Научно-исследовательский отдел Mindray изучил влияние увеличения концентрации CarHb и LA1c in vitro на результаты анализа для определения концентрации HbA1c с помощью ферментативного биохимического метода. Полученные результаты приведены в Таблице 2.

Проба	Проба				
	Повтор 1	Повтор 2	Повтор 3	Среднее значение	Погрешность
Контрольная группа цельной крови	6.67	6.65	6.71	6.68	/
Лабильный гемоглобин	6.63	6.64	6.61	6.63	-0.7%
Карбамированный гемоглобин	6.56	6.58	6.61	6.58	-1.4%

Проба	Проба				
	Повтор 1	Повтор 2	Повтор 3	Среднее значение	Погрешность
Контрольная группа цельной крови	9.40	9.42	9.37	9.40	/
Лабильный гемоглобин	9.35	9.39	9.37	9.37	-0.3%
Карбамированный гемоглобин	9.28	9.30	9.24	9.28	-1.3%

Таблица 2. Влияние CarHb и LA1c на измерение уровня HbA1c с помощью ферментативного метода Mindray

Вся относительная погрешность по сравнению с контрольной группой в Таблице 2 составляет менее 2%, что доказывает отсутствие значительного влияния CarHb и LA1c на результаты анализа с использованием ферментативного биохимического метода.

## Заключение

На результаты анализа для определения концентрации HbA1c влияет не только уровень сахара в крови, на него также могут влиять химические модификации гемоглобина. CarHb и LA1c остаются критическими проблемами при анализе для определения концентрации HbA1c с использованием хроматографии. Неправильная интерпретация может привести к неправильной оценке эффективности гликемического контроля и постановке ошибочного диагноза. Потому перед выбором метода лечения целесообразно исключить такие факторы, приводящие к путанице. Таким образом, при возникновении подозрительного значения HbA1c необходимо провести дальнейшие исследования. Предлагается измерять уровень HbA1c с помощью другого метода анализа, или - проводить анализ для определения концентрации сывороточного фруктозамина и непрерывное мониторирование концентрации глюкозы крови для оценки эффективности контроля уровня глюкозы у пациента.

На результаты ферментативного анализа для определения концентрации HbA1c Mindray производные гемоглобина (CarHb и LA1c) значительного влияния не оказывают. Следовательно имеются все основания заключить что такой анализ полезен для пациентов с заболеваниями почек и сахарным диабетом, а также - для пациентов с резким изменением уровня глюкозы (например, перенесших переливание крови).

## Цитируемые источники

[1] Labile glycated haemoglobin and carbamylated haemoglobin are still critical points for HbA1c measurement (Лабильный гликированный гемоглобин и карбамилированный гемоглобин, по-прежнему, являются критическими точками для измерения уровня HbA1c). Biochemia Medica 2017;27(2):378-86.

[2] Factors determining hemoglobin carbamylation in renal failure (Факторы, определяющие карбамилирование гемоглобина при почечной недостаточности). Kidney International, Vol. 48 (1995), pp. 1605-1610.

[3] Labile glycated haemoglobin and carbamylated haemoglobin are still critical points for HbA1c measurement (Лабильный гликированный гемоглобин и карбамилированный гемоглобин, по-прежнему, являются критическими точками для измерения уровня HbA(1c)). Biochemia medica. 2017; 27(2): 378-86.

# Сравнительное исследование методов анализа для определения концентрации HbA1c и ферментативного метода Mindray



Уровень HbA1c - это основной параметр при лечении диабета. Он широко используется в качестве целевого показателя при лечении, а также прогнозировании риска развития осложнений у пациентов с сахарным диабетом.

Для измерения уровня HbA1c используется множество аналитических методов. Возникающая неоднородность методологии касается сопоставимости и удобства использования анализа для определения концентрации HbA1c. Для получения сопоставимых результатов анализа для определения концентрации HbA1c с использованием разных методов необходима стандартизация этих методов.

## Коммерческие методы измерения HbA1c

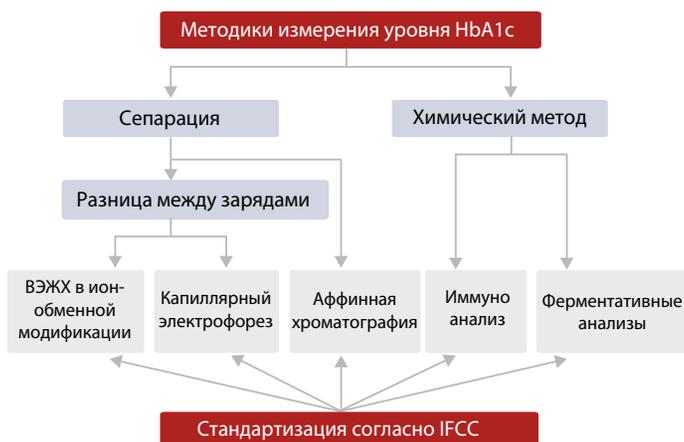


Рис. 1. Аналитические концепции методов измерения HbA1c и их прослеживаемость до стандартной процедуры измерения IFCC

Существуют две основные аналитические концепции: одна основана на разделении фракций гемоглобина, а другая - на химических реакциях (Рис. 1). Хотя с помощью этих методов измеряются различные аналиты, анализы могут быть стандартизированы в соответствии со Стандартной процедурой измерения (RMP), предложенной Международной федерацией клинической химии (IFCC)<sup>[1]</sup>.

## Международная стандартизация измерения HbA1c

Рабочая группа Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины (IFCC) по стандартизации методов анализа для определения концентрации HbA1c создала международную референсную систему измерения HbA1c. Гликированные и негликированные N-концевые гексапептиды разделяют с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с последующей идентификацией и количественным определением с помощью капиллярного электрофореза (КЭ) или масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (ESI-MS). Успешная подготовка калибровочного материала (чистого HbA1c) должна привести к дальнейшему улучшению межметодовой и межлабораторной вариативности.

В 2007 году была проведена встреча в Милане, по итогам которой Американская диабетическая ассоциация (ADA), Европейская ассоциация по изучению диабета (EASD), IFCC и Международная диабетическая федерация (IDF) опубликовали совместное консенсусное заявление<sup>[2]</sup>. Ими были предложены следующие рекомендации:

«Результаты анализа для определения концентрации HbA1c должны быть стандартизированы во всем мире, включая референсную систему и отчеты о результатах. Новая референсная система IFCC для определения концентрации HbA1c представляет собой единственный действительный критерий для стандартизации измерений. Результаты анализа для определения концентрации HbA1c должны оцениваться во всем мире в единицах IFCC (ммоль/моль) и в производных единицах NGSP (%) с использованием основного уравнения IFCC-NGSP».



Рис. 2 Эталонная система измерения согласно IFCC и цепочка прослеживаемости в случае HbA1c

Ферментативный метод для определения концентрации HbA1c, разработанный Mindray, можно проследить до эталонного стандарта IFCC, он имеет высокую точность с незначительной погрешностью и низким коэффициентом вариативности (CV%), что помогает врачам точнее диагностировать диабет и проводить лечение.

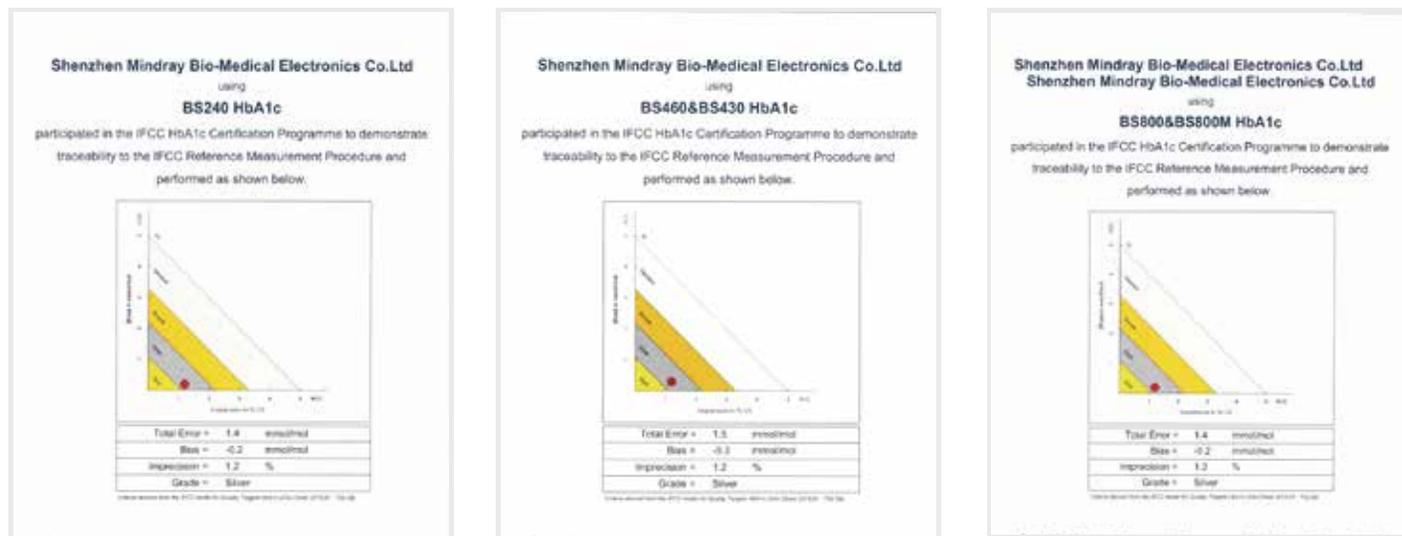


Рис. 3. Сертификаты Mindray на методику анализа HbA1c (IFCC)

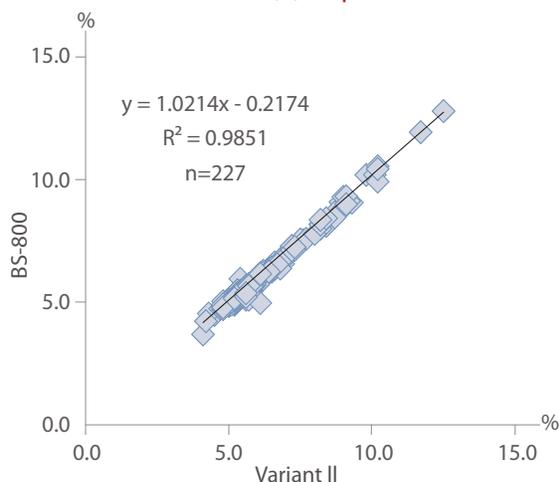
## Сравнение коммерческих методов

Научно-исследовательский отдел Mindray сравнил свой ферментативный метод для определения концентрации HbA1c с другими доступными лабораторными методами. Принципы анализа с использованием других методов, разработанных Bio-Rad, Trinity Biotech и Roche, основаны на использовании ионообменной хроматографии, боронатной аффинной хроматографии и иммуноанализа, соответственно.

Все методы можно проследить до эталонного метода IFCC.

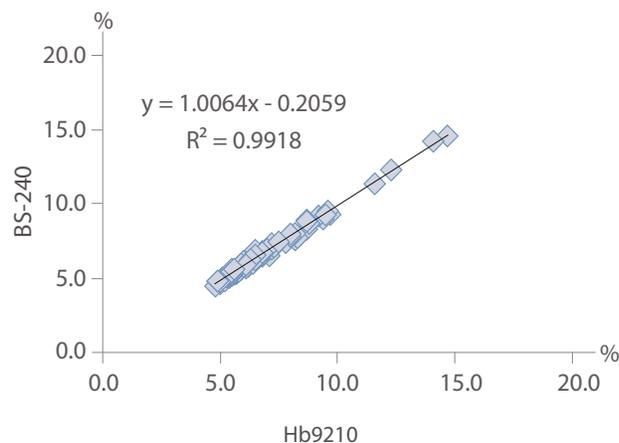
Каждая проба исследовалась в дублях. Каждый метод был откалиброван в соответствии с инструкциями производителя, а два контрольных образца, нормального и высокого уровня, были протестированы в рамках внутреннего контроля качества. Результаты анализа для определения концентрации HbA1c были представлены в процентах от общего содержания гемоглобина. Анализ корреляции, регрессии и относительной погрешности показан на Рис. 4, 5 и 6.

**HbA1c BS-800 (Y) в сравнении с VARIANT II (X)**

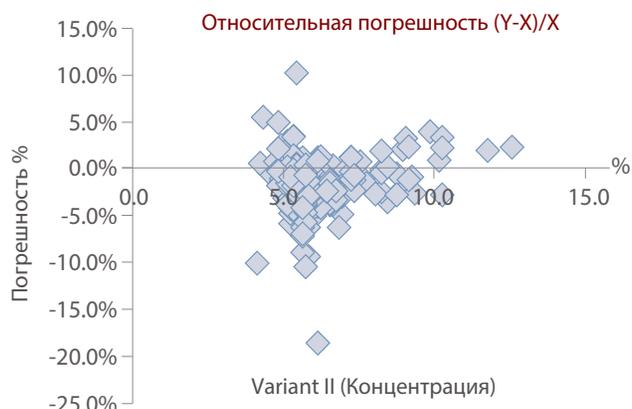


(а) Корреляция между результатами анализа для определения концентрации HbA1c, полученными с помощью BS-800 и Variant II

**HbA1c BS-240(Y) в сравнении с Hb9210(X)**

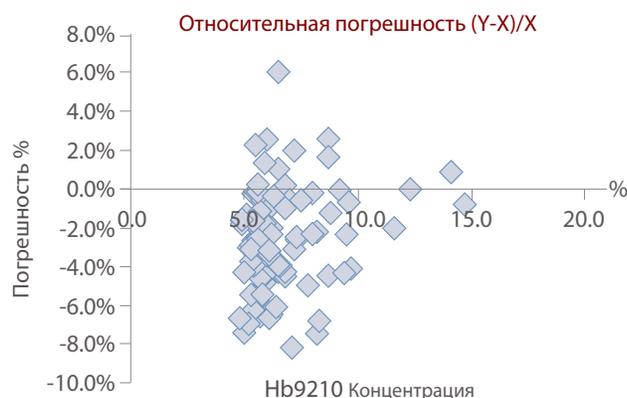


(а) Корреляция между результатами анализа для определения концентрации HbA1c, полученными с помощью BS-240 и Hb9210



(б) Относительная погрешность% = (Y-X)/X

Y - результаты анализа для определения концентрации HbA1c, полученные с помощью BS-800;  
X - результаты анализа для определения концентрации HbA1c, полученные с помощью Variant II



(б) Относительная погрешность% = (Y-X)/X

Y - результаты анализа для определения концентрации HbA1c, полученные с помощью BS-240;  
X - результаты анализа для определения концентрации HbA1c, полученные с помощью Hb9210.

BS-800 по сравнению с Variant II									
Общее кол-во проб		Мин. концентрация	Макс. концентрация	Угловой коэффициент		Свободный коэффициент		R <sup>2</sup>	
227		3.7	12.8	1.021		-0.217		0.985	
				Пройдено				Пройдено	
Уров. 1 конц.	6,5	Уров. 2 конц.	7	Уров. 3 конц.	8	Уров. 4 конц.	8,5	Уров. 5 конц.	9
Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.
-1.2%	-0.1	-1.0%	-0.1	-0.6%	0.0	-0.4%	0.0	-0.3%	0.0
Пройдено		Пройдено		Пройдено		Пройдено		Пройдено	

(в) Параметры линии регрессии и относительная погрешность на ключевых уровнях HbA1c

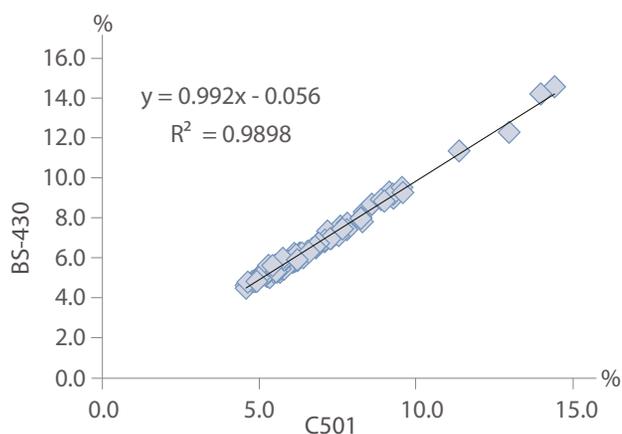
BS-240 по сравнению с Hb9210									
Общее кол-во проб		Мин. концентрация	Макс. концентрация	Угловой коэффициент		Свободный коэффициент		R <sup>2</sup>	
120		4.5	14.6	1.006		-0.206		0.992	
				Пройдено		/		Пройдено	
Уров. 1 конц.	6,5	Уров. 2 конц.	7	Уров. 3 конц.	8	Уров. 4 конц.	8,5	Уров. 5 конц.	9
Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.
-2.5%	-0.2	-2.3%	-0.2	-1.9%	-0.2	-1.8%	-0.2	-1.6%	-0.1
Пройдено		Пройдено		Пройдено		Пройдено		Пройдено	

(в) Параметры линии регрессии и относительная погрешность на ключевых уровнях HbA1c

Рис. 4 Сравнение методов Mindray BS-800 (биохимический ферментативный метод) и Bio-Rad Variant II (метод ионообменной хроматографии)

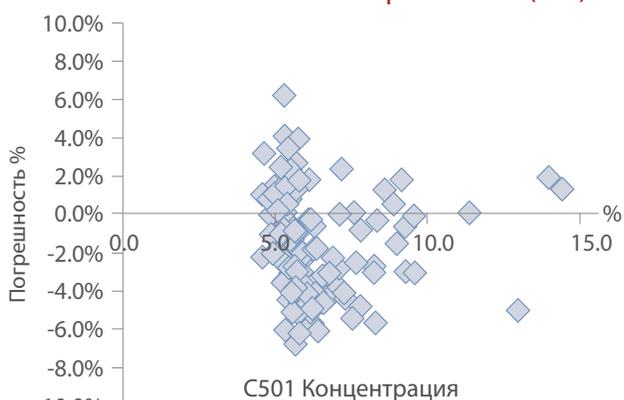
Рис. 5 Сравнение методов Mindray BS-240 (биохимический ферментативный метод) и Trinity Biotech Premier Hb9210 (метод боронатной аффинной хроматографии)

### НbA1c BS-430(Y) в сравнении с C501(X)



(а) Корреляция между результатами анализа для определения концентрации НbA1c, полученными с помощью BS-240 и Нb9210

### Относительная погрешность (Y-X)/X



(б) Относительная погрешность % = (Y-X)/X

Y - результаты анализа для определения концентрации НbA1c, полученные с помощью BS-430;

X - результаты анализа для определения концентрации НbA1c, полученные с помощью C501.

### BS-800 по сравнению с Variant II

Общее кол-во проб		Мин. концентрация	Макс. концентрация	Угловой коэффициент	Свободный коэффициент	R <sup>2</sup>			
120		4.5	14.6	0.992	-0.056	0.990			
		Пройдено		Пройдено					
Уров. 1 конц.	6.5	Уров. 2 конц.	7	Уров. 3 конц.	8	Уров. 4 конц.	8,5	Уров. 5 конц.	9
Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.	Отн. погр.	Абс. погр.
-1.7%	-0.1	-1.6%	-0.1	-1.5%	-0.1	-1.5%	-0.1	-1.4%	-0.1
Пройдено		Пройдено		Пройдено		Пройдено		Пройдено	

(в) Параметры линии регрессии и относительная погрешность на ключевых уровнях НbA1c

Рис. 6. Сравнение методов Mindray BS-430 (биохимический ферментативный метод) и Roche Cobas C501 (метод иммуноанализа)

Согласно критериям сравнения методов определения концентрации НbA1c (2019 CLIA [3] и 2020 CAP [4]), ферментативный метод определения концентрации НbA1c, разработанный Mindray, показал хорошую корреляцию (R<sup>2</sup> > 0,96) с результатами ВЭЖХ, используемой в Bio-Rad Variant II (ионообменная хроматография), ВЭЖХ, используемой в Trinity Hb9210 (боронатная аффинная хроматография) и Roche C501 (иммунотурбидиметрия). Относительная погрешность (%) на ключевых уровнях НbA1c между методами в каждой паре составляет менее 5%.

ПАРАМЕТР	Ед. изм. в отчёте	2019 CLIA и 2020 CAP		
		Угл. коэфф. (k)	R <sup>2</sup>	Относительная погрешность
НbA1c	%	1±0.05	0.95	±5.00%

Таблица 1. Критерии сравнения методов определения концентрации НbA1c

## Заключение

Согласно критериям сравнения методов определения концентрации НbA1c (2019 CLIA[3] и 2020 CAP[4]), Международная стандартизация методов измерения НbA1c позволяет сделать результаты анализа для определения концентрации НbA1c, полученные с помощью различных методов, более точными и сопоставимыми.

Ферментативный метод определения концентрации НbA1c, разработанный Mindray, хорошо согласуется с другими коммерческими методами исследования. Было доказано, что он является надежным и эффективным методом количественного определения НbA1c.

## Цитируемые источники

- [1] HbA1c: A Review of Analytical and Clinical Aspects (HbA1c: Обзор аналитических и клинических аспектов). Ann Lab Med 2013; 33:393-400.
- [2] Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement: the American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation (Консенсусное заявление по международной стандартизации измерения гемоглобина А1С: Американская диабетическая ассоциация, Европейская ассоциация по изучению диабета, Международная федерация клинической химии и лабораторной медицины и Международная диабетическая федерация). Diabetes Care. 2007 Sep;30(9):2399-400. doi: 10.2337/dc07-9925.
- [3] 2019: CLIA proposed changes to PT acceptable limits (Предложенные CLIA изменения допустимых пределов времени коагуляции крови)
- [4] CAP (College of American Pathologists) acceptable limit for grading of the target value in 2020 (Допустимый предел согласно CAP (Коллегии американских патологов) для оценки целевого значения в 2020 г.)

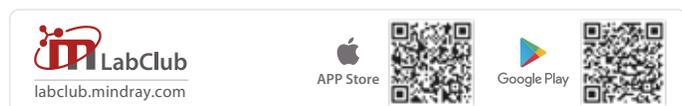
# mindray

healthcare within reach

Следите за новостями Mindray в социальных сетях



Присоединяйтесь к LabClub, глобальному онлайн-сообществу специалистов лабораторной диагностики.



[www.mindray.com](http://www.mindray.com)

p/n ENG-ChemBook-210X17P-20211 115  
©2021 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co.,Ltd. Все права защищены.

# mindray

healthcare within reach

**ООО «МИНДРЕЙ МЕДИКАЛ РУС»**  
129090, г. Москва, ул. Олимпийский пр., д. 16, стр. 5  
Тел.: +7 499 553 60 36 Факс: +7 499 553 60 39  
**Телефон технической поддержки пользователей**  
**8-800-333-53-23** (звонок по России бесплатный)  
[www.mindray.com](http://www.mindray.com)

ДАННЫЙ МАТЕРИАЛ ПРЕДНАЗНАЧЕН ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ