

CODE CQN : HT

### Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de l'hémoglobine A1c (HbA1c) dans le sang total sur système DiaSys respons<sup>®</sup>910

#### Présentation

Référence 1 3329 99 10 922

4 flacons duo (R1+R2) et 2 flacons (R3) pour 400 déterminations au total

Référence 1 3329 99 10 927

2 flacons duo (R1+R2) et 1 flacon (R3) pour 200 déterminations au total

#### Méthode

Test immunoturbidimétrique à particules renforcées

La détermination de l'HbA1c est réalisée directement sans mesure de l'hémoglobine totale.

#### Principe

L'hémoglobine totale et l'HbA1c dans l'hémolysat se fixent avec la même affinité sur les particules du R1. L'ampleur de la fixation est proportionnelle à la concentration relative des deux substances dans le sang.

L'anticorps anti-HbA1c humain monoclonal (souris) (R2) se fixe sur l'HbA1c liée aux particules. L'anticorps anti-souris-IgG polyclonal (chèvre) (R3) réagit avec l'anticorps anti-HbA1c humain monoclonal, et une agglutination se produit. L'absorbance mesurée est proportionnelle à l'HbA1c liée aux particules qui, de son côté, est proportionnelle au pourcentage d'HbA1c de l'échantillon.

#### Standardisation

L'essai a été standardisé suivant la méthode de référence reconnue IFCC [1].

Les valeurs NGSP et IFCC montrent une relation linéaire et peuvent ainsi être calculées les unes des autres tout en utilisant la formule suivante :

$$\text{HbA1c (IFCC}^b) = (\text{HbA1c (NGSP}^a) - 2,15) / 0,0915$$

$$\text{HbA1c (NGSP}^a) = 0,0915 \times \text{HbA1c (IFCC}^b) + 2,15$$

a : Valeurs NGSP en %

b : Valeurs IFCC en mmol/mol

IFCC : International Federation of Clinical Chemistry [1,2,3]

DCCT : Diabetes Control and Complications Trial [4]

NGSP : National Glycohemoglobin Standardization Program [5]

#### Concentrations de HbA1c et Concentrations Moyennes de Glucose [6]

En raison d'une corrélation linéaire entre l'hémoglobine A1c et les concentrations moyennes de glucose, les valeurs HbA1c peuvent être converties en valeurs moyennes estimées de glucose par les équations suivantes :

Standardisation selon IFCC (calculé selon référence bibliographique 10) :

Concentration moyenne de glucose [mg/dL] =  $2,63 \times \text{HbA1c}^b \pm 15,01$

Concentration moyenne de glucose [mmol/L] =  $0,146 \times \text{HbA1c}^b \pm 0,829$

b : Valeurs HbA1c en mmol/mol IFCC

Standardisation selon NGSP :

Concentration moyenne de glucose [mg/dL] =  $28,7 \times \text{HbA1c}^a - 46,7$

Concentration moyenne de glucose [mmol/L] =  $1,59 \times \text{HbA1c}^a - 2,59$

a : Valeurs HbA1c en % NGSP

Parmi les variations, aucune différence significative n'a été observée dans l'équation de régression, avec les individus testés, en tenant compte notamment du sexe, de la présence ou non de diabète, du type de diabète, de l'âge, de la race ou de l'ethnie. Bien que cette équation puisse être utilisée pour la plupart des individus, chaque laboratoire doit s'assurer que les équations de régression mentionnées sont applicables au groupe de patients à examiner.

#### Réactifs

##### Composants et concentrations

<b>R1 :</b>	Tampon	20 mmol/L
	Latex	0,14 %
<b>R2 :</b>	Tampon	10 mmol/L
	Anticorps de souris anti-HbA1c humain monoclonal	5,5 mg/dL
<b>R3 :</b>	Tampon	10 mmol/L
	Anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG de souris	67 mg/dL

#### Préparation et conservation des réactifs

Les réactifs sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination et évaporation. Ne pas congeler les réactifs et les garder à l'abri de la lumière ! Les flacons respons de DiaSys offrent une protection contre la lumière.

#### Avertissements et précautions d'emploi

- Le réactif 2 contient de la matière animale. Manier le produit comme potentiellement infectieux selon les précautions universelles et de bonne pratique de laboratoire.
- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs erronées [13].
- Des anticorps hétérophiles dans les spécimens de patients peuvent produire des valeurs faussées.
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel !

#### Élimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

#### Préparation des réactifs

Les réactifs 2 et 3 doivent être pré-mélangés avant l'emploi. Transvasez exactement 3,5 mL de la bouteille R3 dans le réactif R2 du flacon double. Mélangez avec attention afin d'éviter la formation de mousse !

Stabilité du pré-mélange R2/R3 : 1 mois entre +2 °C et +8 °C.

Effectuer une calibration avec chaque changement de flacon de réactif prémélangé 2 et 3.

#### Spécimen

Sang total recueilli sur EDTA

Prélever le sang total par prise du sang standardisée et remplir le tube de prélèvement selon les spécifications du producteur.

#### Préparation des échantillons :

La solution d'hémolyse DiaSys oneHbA1c, réf. 1 4570 99 10 113 est nécessaire à la préparation des échantillons.

Préparation des échantillons :

Solution d'hémolyse 1000 µL

Echantillon/Calibrant/Contrôle 20 µL

Mélanger et laisser reposer 5 minutes ou jusqu'à ce que l'hémolyse soit complète.

Stabilité de spécimen [7] :

Sang total 1 semaine entre +2 et +8 °C

Hémolysat 10 heures entre +15 et +25 °C

Hémolysat 10 jours entre +2 et +8 °C

Éliminer les échantillons contaminés.

#### Calibrants et contrôles

TruCal HbA1c liquid de DiaSys est recommandé pour la calibration. Les valeurs de ces calibrants sont établies par rapport à la méthode approuvée de l'IFCC. Les valeurs selon DCCT/NGSP en % ont été dérivées par calcul à base des valeurs selon IFCC. Utiliser TruLab HbA1c liquid pour le contrôle de qualité interne. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Taille coffret
TruCal HbA1c liquid	1 3320 99 10 043	4 x 0,25 mL
TruLab HbA1c liquid niveau 1	5 9790 99 10 074	4 x 0,25 mL
TruLab HbA1c liquid niveau 2	5 9800 99 10 074	4 x 0,25 mL

#### Performances

Domaine de mesure de 30 à 150 mmol/mol HbA1c selon IFCC (4,9 à 16 % selon DCCT/NGSP), au moins jusqu'à la concentration du calibrant le plus élevé.

Le test convient à une concentration d'hémoglobine totale de 6,6 à 26 g/dL

Limite de détection**	30 mmol/mol HbA1c
Stabilité à bord de l'analyseur	4 semaines
Stabilité de calibration	2 semaines

\*\* selon CLSI, document EP17-A2, Vol. 32, No. 8

## Spécificité/Interférences

L'étude sur les interférences a été conduite selon le protocole EP7-A2 CLSI.

### IFCC

Pour chaque substance interférente, deux échantillons ayant des valeurs différentes d'HbA1c ont été testés ; un échantillon de bas niveau d'un intervalle d'HbA1c de 20 à 40 mmol/mol et un échantillon de niveau élevé dans d'un intervalle d'HbA1c de 60 à 100 mmol/mol.

### DCCT/NGSP

Pour chaque substance interférente, deux échantillons ayant des valeurs différentes d'HbA1c ont été testés ; un échantillon de bas niveau d'un intervalle d'HbA1c de 4,0 à 5,8 % et un échantillon de niveau élevé dans d'un intervalle d'HbA1c de 7,6 à 11,3 %.

Le tableau ci-dessous regroupe les résultats qui conviennent pour chaque niveau standardisé soit selon IFCC soit selon DCCT/NGSP.

Substance interférente	Interférences < 7 % DCCT/NGSP et < 10 % IFCC
Acide ascorbique	jusqu'à 60 mg/dL
Bilirubine (conjuguée et non conjuguée)	jusqu'à 60 mg/dL
Glucose	jusqu'à 1000 mg/dL
Hémoglobine, acétylée	jusqu'à 10 mmol/L
Hémoglobine, carbamylée	jusqu'à 10 mmol/L
Lipémie (triglycérides)	jusqu'à 2000 mg/dL
NAC (N-acétylcystéine)	jusqu'à 1000 mg/L
Urée	jusqu'à 300 mg/dL
Facteurs rhumatoïdes	jusqu'à 500 IU/mL
Aucune perturbation n'a été observée par la base de Schiff (intermédiaires labiles) [7]. L'alcoolisme et la prise de doses élevées d'aspirine peuvent induire des résultats erronés. Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [11].	

## Variantes de l'hémoglobine [7] :

Aucune perturbation n'a été observée en présence des variantes AS, AC, AD, AG, DD et elevated A2.

Les variantes AE, AJ, SS, CC, SC, SE, EE, elevated F et elevated A2/F peuvent provoquer des résultats erronés (> 10 % IFCC ; > 7 % DCCT/NGSP).

Étude de précision (Valeurs selon IFCC)			
Intra série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [mmol/mol]	32,2	57,5	87,2
Coefficient de variation [%]	1,86	1,20	1,57
Inter série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [mmol/mol]	33,4	54,8	89,8
Coefficient de variation [%]	3,81	3,79	3,69
Precision totale CLSI (n=80)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [mmol/mol]	32,8	53,5	85,5
Coefficient de variation [%]	4,74	4,45	4,68

Comparaison de méthodes (n=100)	
Méthode x	HbA1c HPLC Arkray HA-8160 V7.41
Méthode y	DiaSys one HbA1c FS (respons <sup>®</sup> 910)
Pente	1,05
Ordonnée à l'origine	-2,95 mmol/mol
Coefficient de corrélation	0,996

## Valeurs de référence

Les valeurs de référence devraient être contrôlées ou établies par chaque laboratoire sur des patients appropriés, non diabétiques.

Valeurs de références recommandées pour HbA1c [9] :

Établir au besoin ses propres valeurs de référence selon la population examinée.

	mmol/mol IFCC	% DCCT/NGSP
Patients non-diabétiques :	20 – 42	4 – 6
Objectif de thérapie :	< 53	< 7
Modification de thérapie :	> 64	> 8

## Valeur limite de la HbA1c pour le diagnostic du diabète mellitus [12]:

Selon la recommandation de l'Association Américaine du Diabète (American Diabetes Association/ADA):

≥ 6.5 % (NGSP) (48 mmol/mol (IFCC))

Des patients montrant des valeurs de l'HbA1c dans un domaine de 5,7 – 6,4 % (NGSP) ou de 39 à 46 mmol/mol HbA1c (IFCC) courent un risque élevé de développer du diabète.

## Références bibliographiques

- Jeppsson OJ, Kobold U, Barr J, Finke A et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 78-89.
- Hoelzel W, Weykamp C et al. IFCC Reference System for Measurement of Hemoglobin A1c in Human Blood and the National Standardization Schemes in the United States, Japan, and Sweden: A Method-Comparison Study. Clin Chem 2004; 50(1): 166-74.
- Nordin G, Dybkær R. Recommendation for term and measurement unit for "HbA1c". Clin Chem Lab Med 2007; 45(8): 1081-2.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes in the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med.1993; 329: 977-86.
- Little RR, Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Myers GL et al. The National Glycohemoglobin Standardization Program: A Five-Years Progress Report. Clin Chem 2001; 47: 1985-92.
- Sacks DB. Translating Hemoglobin A1c into Average Blood Glucose: Implications for Clinical Chemistry. Clinical Chemistry 2008; 54: 1756-8.
- Data on file at DiaSys Diagnostic Systems GmbH.
- Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 142-48.
- Panthechini M, John WG on behalf of the IFCC Scientific Division. Implementation of haemoglobin A1c results traceable to the IFCC reference system: the way forward. Clin Chem Lab Med 2007; 45(8): 942-4.
- Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. p. 790-6.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th. ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press, 2000.
- Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, AR Horvath et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2011; 57(6): e1-e47.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

## Fabricant



DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Allemagne

## oneHbA1c FS - Linear kinetic

### Application for hemolysate from whole blood samples

This application was set up and evaluated by DiaSys. It is based on the standard equipment at that time and does not apply to any equipment modifications undertaken by unqualified personnel.

Identification	
This method is usable for analysis:	Yes
Twin reaction:	No
Name:	HBA1C
Shortcut:	
Reagent barcode reference:	713
Host reference:	713

Technic	
Type:	Fixed time kinetic
First reagent:[ $\mu$ L]	144
Blank reagent	Yes
Sensitive to light	
Second reagent:[ $\mu$ L]	72
Blank reagent	No
Sensitive to light	
Main wavelength:[nm]	660
Secondary wavelength:[nm]	
Polychromatic factor:	
1 st reading time [min:sec]	05:00
Last reading time [min:sec]	10:00
Reaction way:	Increasing
Linear Kinetics	
Substrate depletion: Absorbance limit	
Linearity: Maximum deviation [%]	
Fixed Time Kinetics	
Substrate depletion: Absorbance limit	
Endpoint	
Stability: Largest remaining slope	
Prozone Limit [%]	

Reagents	
Decimals	
Units	

Sample	
Diluent	DIL A (NaCl)
Hemolysis:	
Agent [ $\mu$ L]	0 (no hemolysis)
Cleaner	
Sample [ $\mu$ L]	0
Technical limits	
Concentration technical limits-Lower	30.0000
Concentration technical limits-Upper	150.0000
SERUM	
Normal volume [ $\mu$ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [ $\mu$ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [ $\mu$ L]	
Above normal dilution (factor)	
URINE	
Normal volume [ $\mu$ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [ $\mu$ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [ $\mu$ L]	
Above normal dilution (factor)	
PLASMA	
Normal volume [ $\mu$ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [ $\mu$ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [ $\mu$ L]	
Above normal dilution (factor)	
CSF	
Normal volume [ $\mu$ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [ $\mu$ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [ $\mu$ L]	
Above normal dilution (factor)	
Whole blood	
Normal volume [ $\mu$ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [ $\mu$ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [ $\mu$ L]	
Above normal dilution (factor)	

Results	
Decimals	2
Units	mmol/mol
Correlation factor-Offset	0.0000
Correlation factor-Slope	1.0000

Range	
Gender	All
Age	
SERUM	>=20.00 <=42.00
URINE	
PLASMA	
CSF	
Whole blood	
Gender	
Age	
SERUM	
URINE	
PLASMA	
CSF	
Whole blood	

Contaminants	
Please refer to r910 Carryover Pair Table	

Calibrators details		
Calibrator list	Concentration	
Cal. 1/Blank	0	
Cal. 2	*	
Cal. 3	*	
Cal. 4	*	
Cal. 5	*	
Cal. 6		
	Max delta abs.	
Cal. 1	0.0100	
Cal. 2	0.0100	
Cal. 3	0.0250	
Cal. 4	0.0500	
Cal. 5	0.0600	
Cal. 6		
Drift limit [%]	2.00	

Calculations	
Model	Akima Spline
Degree	

\* Enter calibrator value

\*\*Information has to be inserted (required by software), although HbA1c samples must not be deluted!