

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von Hämoglobin A1c (HbA1c) in Vollblut am DiaSys respons[®]910

Bestellinformation

Bestell-Nr. 1 3329 99 10 922

4 Twincontainer (R1+R2) und zwei Flaschen (R3) für insgesamt 400 Bestimmungen

Bestell-Nr. 1 3329 99 10 927

2 Twincontainer (R1+R2) und eine Flasche (R3) für insgesamt 200 Bestimmungen

Methode

Partikelverstärkter immunturbidimetrischer Test

Die Bestimmung von HbA1c erfolgt direkt ohne Messung von Gesamthämoglobin.

Prinzip

Gesamthämoglobin und HbA1c im Hämolysat binden mit derselben Affinität an Partikel in R1. Das Ausmaß der Bindung ist proportional zur relativen Konzentration beider Substanzen im Blut.

Monoklonaler anti-human-HbA1c-Antikörper (Maus) (R2) bindet an partikelgebundenes HbA1c. Polyklonaler anti-Maus-IgG-Antikörper (Ziege) (R3) reagiert mit dem monoklonalen anti-human-HbA1c-Antikörper und es kommt zu einer Agglutination. Die gemessene Extinktion ist proportional zum partikelgebundenen HbA1c, das wiederum proportional zum prozentuellen Anteil von HbA1c in der Probe ist.

Standardisierung

Der Test ist standardisiert nach der anerkannten IFCC-Referenzmethode [1].

NGSP- und IFCC-Werte stehen zueinander in einem linearen Verhältnis und können daher anhand folgender Formeln berechnet werden:

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

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

a: NGSP-Werte in %

b: IFCC-Werte in mmol/mol

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

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial [4]

NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program [5]

HbA1c- und Mittlere Glucosekonzentration [6]

Aufgrund einer linearen Korrelation zwischen Hämoglobin A1c- und mittleren Glucosekonzentrationen können HbA1c-Werte in geschätzte mittlere Glucosewerte mit Hilfe nachfolgender Gleichungen umgerechnet werden:

Standardisierung nach IFCC (berechnet gemäß Angaben in Literatur 10):

$$\text{Mittlere Glucosekonzentration [mg/dL]} = 2,63 \times \text{HbA1c}^b + 15,01$$

$$\text{Mittlere Glucosekonzentration [mmol/L]} = 0,146 \times \text{HbA1c}^b + 0,829$$

b: HbA1c-Werte in mmol/mol IFCC

Standardisierung nach NGSP:

$$\text{Mittlere Glucosekonzentration [mg/dL]} = 28,7 \times \text{HbA1c}^a - 46,7$$

$$\text{Mittlere Glucosekonzentration [mmol/L]} = 1,59 \times \text{HbA1c}^a - 2,59$$

a: HbA1c-Werte in % NGSP

Für die lineare Regressionsgleichung ergaben sich bei getesteten Individuen keine bedeutenden Unterschiede im Hinblick auf Geschlecht, bestehende oder nicht bestehende Diabetes-erkrankung, Diabetes-Typ, Rasse oder Volkszugehörigkeit. Obwohl diese Gleichung für eine Mehrheit der Individuen benutzt werden kann, muss jedes Labor selbst abklären, ob die genannten Regressionsgleichungen für die zu untersuchende Patientengruppe geeignet sind.

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1: Puffer	20 mmol/L
Latex	0,14 %
R2: Puffer	10 mmol/L
Monoklonaler Maus-anti-human-HbA1c-Antikörper	5,5 mg/dL
R3: Puffer	10 mmol/L
Polyklonaler Ziegen-anti-Maus-IgG-Antikörper	67 mg/dL

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Die Reagenzien sind bei 2–8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn nach dem Öffnen der Flaschen Kontaminationen und Verdunstung vermieden werden. Vor Lichteinstrahlung schützen! DiaSys respons-Container bieten Lichtschutz. Reagenzien nicht einfrieren!

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Reagenz 2 enthält tierisches Material. Behandeln Sie das Produkt als potentiell infektiös gemäß allgemein anerkannter Vorsichtsmaßnahmen und guter Laborpraxis.
2. In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [13].
3. Heterophile Antikörper in Patientenproben können zu verfälschten Ergebnissen führen.
4. Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
5. Nur für professionelle Anwendung!

Entsorgung

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien 2 und 3 müssen vorgemischt werden. Pipettieren Sie 3,5 mL R3 in die R2-Öffnung des Twincontainers. Sehr vorsichtig mischen, Schaumbildung vermeiden!

Stabilität von vorgemischtem R2/R3: 1 Monat bei 2–8 °C.

Mit jedem Flaschenwechsel der vorgemischten Reagenzien 2 und 3 muss eine Kalibration erfolgen.

Probenmaterial

EDTA-Vollblut

Die Gewinnung des Vollblutes sollte mittels standardisierter Blutabnahme erfolgen und die Entnahmeröhrchen entsprechend den Angaben des Herstellers gefüllt werden.

Probenvorbereitung

Zur Probenvorbereitung ist die DiaSys oneHbA1c Hämolysierlösung Bestell-Nr. 1 4570 99 10 113 erforderlich.

Probenvorbereitung:	
Hämolysierlösung	1000 µL
Probe/Kalibrator/Kontrolle	20 µL

Mischen und 5 Min. stehen lassen oder bis vollständige Hämolyse eingetreten ist.

Haltbarkeit der Proben [7]:

Vollblut	1 Woche	bei	2–8 °C
Hämolysat	10 Stunden	bei	15–25 °C
Hämolysat	10 Tage	bei	2–8 °C

Kontaminierte Proben verwerfen.

Kalibratoren und Kontrollen

DiaSys TruCal HbA1c liquid wird zur Kalibrierung empfohlen. Die Kalibratorwerte sind rückverfolgbar auf die anerkannte IFCC-Referenzmethode. Werte nach DCCT/NGSP in % wurden aus den Werten nach IFCC berechnet. DiaSys TruLab HbA1c liquid für die interne Qualitätskontrolle messen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruCal HbA1c liquid	1 3320 99 10 043	4 x 0,25 mL
TruLab HbA1c liquid Level 1	5 9790 99 10 074	4 x 0,25 mL
TruLab HbA1c liquid Level 2	5 9800 99 10 074	4 x 0,25 mL

Leistungsmerkmale

Messbereich von 30 bis 150 mmol/mol HbA1c nach IFCC (4,9 bis 16 % nach DCCT/NGSP), mindestens aber bis zur Konzentration des höchsten Kalibrators.	
Der Test ist geeignet für eine Gesamthämoglobinkonzentration von 6,6 - 26 g/dL.	
Nachweisgrenze LOD/LOQ**	30 mmol/mol HbA1c
Stabilität im Gerät	4 Wochen
Kalibrationsstabilität	2 Wochen

** gemäß CLSI Dokument EP17-A2, Vol. 32, No. 8

Interferenzen

Die Interferenz Studie wurde gemäß CLSI Dokument EP7-A2 durchgeführt.

IFCC

Für jede störende Substanz wurden zwei Proben mit unterschiedlichen HbA1c-Werten getestet; eine niedrige Probe mit HbA1c-Werten von 20 – 40 mmol/mol und eine hohe Probe mit HbA1c-Werten von 60 – 100 mmol/mol.

DCCT/NGSP

Für jede störende Substanz wurden zwei Proben mit unterschiedlichen HbA1c-Werten getestet; eine niedrige Probe mit HbA1c-Werten von 4,0 – 5,8 % und eine hohe Probe mit HbA1c-Werten von 7,6 – 11,3 %.

Die nachstehende Tabelle fasst die Ergebnisse für alle getesteten Levels zusammen. Sie gelten sowohl für die IFCC als auch für die DCCT/NGSP Standardisierung.

Störende Substanz	Interferenzen <7 % DCCT/NGSP und <10 % IFCC
Ascorbinsäure	bis 60 mg/dL
Bilirubin (konjugiert und unkonjugiert)	bis 60 mg/dL
Glukose	bis 1000 mg/dL
Hämoglobin, acetyliert	bis 10 mmol/L
Hämoglobin, carbamylisiert	bis 10 mmol/L
Lipämie (Triglyzeride)	bis 2000 mg/dL
N-Acetylcystein (NAC)	bis 1000 mg/L
Harnstoff	bis 300 mg/dL
Rheumafaktor	bis 500 IU/mL
Durch die Schiffische Base (labile Zwischenstufen) treten keine Interferenzen auf [7]. Alkoholismus und die Einnahme hoher Dosen von Aspirin können die HbA1c-Werte beeinflussen. Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS [11].	

Hämoglobin-Varianten [7]:

Bei den Varianten AS, AC, AD, AG, DD und elevated A2 treten keine signifikanten Interferenzen auf.

Die Varianten AE, AJ, SS, CC, SC, SE, EE, elevated F und elevated A2/F können zu abweichenden HbA1c-Ergebnissen (> 10 % IFCC; > 7% DCCT/NGSP) führen.

Präzision (Werte nach IFCC)			
In der Serie (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [mmol/mol]	32,2	57,5	87,2
Variationskoeffizient [%]	1,86	1,20	1,57
Von Tag zu Tag (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [mmol/mol]	33,4	54,8	89,8
Variationskoeffizient [%]	3,81	3,79	3,69
Total Präzision CLSI (n=80)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [mmol/mol]	32,8	53,5	85,5
Variationskoeffizient [%]	4,74	4,45	4,68

Methodenvergleich (n=100) nach IFCC	
Test x	HbA1c HPLC Arkray HA-8160 V7.41
Test y	DiaSys one HbA1c FS (respons [®] 910)
Steigung	1,05
Achsenabschnitt	-2,95 mmol/mol
Korrelationskoeffizient	0,996

Referenzbereich

Vorgeschlagene Referenzwerte für HbA1c [9]:

	mmol/mol	%
	IFCC	NGSP
Nicht diabetische Patienten	20 - 42	4 - 6
Therapieziel	< 53	< 7
Änderung der Therapie	> 64	> 8

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

HbA1c-Grenzwert für die Diagnose von Diabetes Mellitus [12]:

Gemäß der Empfehlungen der Amerikanischen Diabetes-Vereinigung (ADA):

≥ 6.5 % (NGSP) (48 mmol/mol (IFCC))

Patienten mit HbA1c-Werten im Bereich von 5,7 – 6,4 % HbA1c (NGSP) oder 39 – 46 mmol/mol HbA1c (IFCC) haben gegebenenfalls ein erhöhtes Risiko, an Diabetes zu erkranken.

Literatur

- 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. 3rd 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.

Hersteller



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland

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:[μ L]	144
Blank reagent	Yes
Sensitive to light	
Second reagent:[μ 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 [μ L]	0 (no hemolysis)
Cleaner	
Sample [μ L]	0
Technical limits	
Concentration technical limits-Lower	30.0000
Concentration technical limits-Upper	150.0000
SERUM	
Normal volume [μ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	
Above normal dilution (factor)	
URINE	
Normal volume [μ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	
Above normal dilution (factor)	
PLASMA	
Normal volume [μ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	
Above normal dilution (factor)	
CSF	
Normal volume [μ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	
Above normal dilution (factor)	
Whole blood	
Normal volume [μ L]	4.0**
Normal dilution (factor)	1**
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ 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!