

## ⓄⓃⓄ HbA1c FS\*

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de hemoglobina A1c (HbA1c) en sangre entera en DiaSys respons<sup>®</sup>910

### Información de pedido

#### N° de pedido 1 3329 99 10 922

4 botellas dobles (R1+R2) y 2 botellas (R3) para 400 determinaciones en total

#### N° de pedido 1 3329 99 10 927

2 botellas dobles (R1+R2) y 1 botella (R3) para 200 determinaciones en total

### Método

Test inmunturbidimétrico con partículas de refuerzo. La determinación de HbA1c se produce directamente sin medición de hemoglobina total.

### Principio

La hemoglobina total y la HbA1c en hemolizado se unen con la misma afinidad a las partículas en R1. El grado de unión es proporcional a la concentración relativa de ambas sustancias en la sangre.

El anticuerpo monoclonal HbA1c anti-humano (ratón) (R2) se une a la HbA1c unida por partículas. El anticuerpo policlonal IgG anti-ratón (cabra) (R3) reacciona con el anticuerpo monoclonal HbA1c anti-humano produciendo una aglutinación. La extinción medida es proporcional a la HbA1c unida por partículas que, a su vez, es proporcional al porcentaje de HbA1c en la muestra.

### Estandarización

La prueba ha sido estandarizado a partir del método de referencia aprobado IFCC [1].

Los valores NGSP muestran una relación lineal a los del IFCC. Por lo tanto se pueden calcular mediante la siguiente fórmula:

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

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

a: Valores NGSP en %

b: Valores 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]

### Concentraciones de HbA1c y de Glucosa Media [6]

Gracias a la correlación lineal existente entre la hemoglobina A1c y las concentraciones medias de glucosa, los valores de HbA1c se pueden convertir en valores medios estimados de glucosa mediante las ecuaciones siguientes:

Normalización según IFCC (calculada conforme a la referencia bibliográfica 10):

$$\text{Concentración media de glucosa [mg/dL]} = 2,63 \times \text{HbA1c} + 15,01$$

$$\text{Concentración media de glucosa [mmol/L]} = 0,146 \times \text{HbA1c} + 0,829$$

b: Valores HbA1c en mmol/mol IFCC

Normalización según NGSP:

$$\text{Concentración media de glucosa [mg/dL]} = 28,7 \times \text{HbA1c} - 46,7$$

$$\text{Concentración media de glucosa [mmol/L]} = 1,59 \times \text{HbA1c} - 2,59$$

a: Valores HbA1c en % NGSP

No se observan diferencias significativas en la ecuación de regresión para las variables existentes en la población estudiada (sexo, presencia o ausencia de diabetes, tipo de diabetes, edad, raza u origen étnico). Aunque esta ecuación puede emplearse en la mayoría de individuos, cada laboratorio tiene que asegurarse de que la ecuación de regresión es válida para su grupo de pacientes.

### Reactivo

#### Componentes y concentraciones

<b>R1:</b> Amortiguadora	20 mmol/L
Látex	0,14 %
<b>R2:</b> Amortiguadora	10 mmol/L
Anticuerpo monoclonal HbA1c antihumano de ratón	5,5 mg/dL
<b>R3:</b> Amortiguadora	10 mmol/L
Anticuerpo policlonal IgG anti-ratón de cabra	67 mg/dL

#### Instrucciones de almacenamiento y estabilidad del reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado como fecha de expiración, si son almacenados entre 2 y 8 °C, y si se evita la contaminación. No congelar los reactivos y protegerlos de la luz. Las botellas respons de DiaSys ofrecen protección contra la luz.

#### Advertencias y precauciones

1. El reactivo 2 contiene material de origen animal. Tratar el producto como potencialmente infeccioso según las precauciones universales y la buena práctica de laboratorio.
2. Casos muy raros, especímenes de pacientes sufriendo de gammopatías podrían acabar en valores falsificados [13].
3. Los anticuerpos heterófilos en especímenes de pacientes pueden llevar a valores erróneos.
4. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para el diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
5. ¡Únicamente para el empleo profesional!

#### Manipulación de desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

#### Preparación de los reactivos

Reactivos 2 y 3 tienen que ser premezclados antes del uso. Transferir 3,5 mL R3 en el envase del R2. Mezcle con cuidado para echar espuma.

La estabilidad de R2/R3 pre-mezclado es 1 mes de 2 a 8 °C.

Realizar una calibración con cada cambio de un frasco de reactivo premezclado 2 y 3.

#### Tipo de muestra

Sangre entera EDTA

Extraer la sangre total por toma de sangre estandarizada y llenar el tubo de recogida conforme a las especificaciones del fabricante.

#### Preparación de muestras

Para la preparación de muestras se requiere la solución hemolizante DiaSys oneHbA1c (n° de pedido 1 4570 99 10 113).

Preparación de muestras:

Solución hemolizante	1000 µL
Muestra/calibrador/control	20 µL

Mezclar y dejar reposar 5 min. o hasta que se haya completado la hemólisis.

Estabilidad de las muestras[7]:

Sangre entera	1 semana	de	2 a 8 °C
Hemolizante	10 horas	de	15 a 25 °C
Hemolizante	10 días	de	2 a 8 °C

Desear las muestras contaminadas.

## Calibradores y controles

Para la calibración se recomienda utilizar el set calibrador DiaSys TruCal HbA1c líquido. Los valores de calibración son trazables al método de referencia probado de la IFCC. Los valores según DCCT/NGSP en % se derivaron por cálculo de los valores según IFCC. Para el control de calidad interno debe analizarse un control DiaSys TruLab HbA1c líquido. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	N° de pedido	Tamaño del
TruCal HbA1c liquid	1 3320 99 10	4 x 0,25 mL
TruLab HbA1c liquid nivel 1	5 9100 99 10	4 x 0,25 mL
TruLab HbA1c liquid nivel 2	5 9100 99 10	4 x 0,25 mL

## Características

Rango de medida de 30 – 150 mmol/mol de HbA1c según IFCC (4,9 – 16 % según NGSP) y llega por lo menos hasta la concentración del calibrador más alto. (El test está indicado para una concentración total de hemoglobina de 6,6 a 26 g/dL).	
Límite de detección**	30 mmol/mol HbA1c
Estabilidad en el analizador	4 semanas
Estabilidad de la calibración	2 semanas

\*\*según CLSI, documento EP17-A2, Vol. 32, No. 8

## Interferencias

Una estudio sobre interferencias fue realizada según el protocolo EP7-A2 CSLI.

### IFCC

Para cada sustancia interferente, dos muestras con valores diferentes de la HbA1c fueron determinados; una muestra de un nivel bajo de un intervalo de la HbA1c de 20 a 40 mmol/mol y una muestra de nivel elevado dentro de un intervalo de la HbA1c de 60 a 100 mmol/mol.

### DCCT/NGSP

Para cada sustancia interferente, dos muestras con valores diferentes de la HbA1c fueron determinados; una muestra de un nivel bajo dentro de un intervalo de la HbA1c entre 4,0 y 5,8 % y una muestra de nivel elevado dentro de un intervalo de la HbA1c de 7,6 y 11,3 %.

La tabla abajo resume los resultados cumpliendo con todos los niveles de test y son aplicables tanto para la estandarización IFCC como para DCCT/NGSP.

Sustancia interferente	Interferencias < 7 % DCCT/NGSP y < 10 % IFCC
Acido ascórbico	hasta 60 mg/dL
Bilirrubina (conjugada y no conjugada)	hasta 60 mg/dL
Glucosa	hasta 1000 mg/dL
Hemoglobina, acetilada	hasta 10 mmol/L
Hemoglobina, carbamilada	hasta 10 mmol/L
Lipemia (triglicéridos)	hasta 2000 mg/dL
NAC (acetilcisteína)	hasta 1000 mg/L
Urea	hasta 300 mg/dL
Factores reumatoides	hasta 500 IU/mL
No se presentan interferencias por la base de Schiff (intermedios débiles). El alcoholismo y la ingestión de una dosis elevada de Aspirina pueden falsear resultados. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [11].	

## Variantes de la hemoglobina [7]:

No aparecen interferencias con las variantes de la hemoglobina AS, AC, AD, AG, DD y elevated A.

Las variantes de la hemoglobina AE, AJ, SS, CC, SC, EE elevated F y elevated A2/F podrían provocar resultados erróneos (> 10 % IFCC; > 7 % DCCT/NGSP).

Precisión (Valores según IFCC)			
En la serie (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [mmol/mol]	32,2	57,5	87,2
Coefficiente de variación [%]	1,86	1,20	1,57
De un día a otro (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [mmol/mol]	33,4	54,8	89,8
Coefficiente de variación [%]	3,81	3,79	3,69
Precisión total CLSI (n=80)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [mmol/mol]	32,8	53,5	85,5
Coefficiente de variación [%]	4,74	4,45	4,68

Comparación de métodos (n=100) según IFCC	
Test x	HbA1c HPLC Arkray HA-8160 V7.41
Test y	DiaSys one HbA1c FS (respons <sup>®</sup> 910)
Pendiente	1,05
Intersección	-2,95 mmol/mol
Coefficiente de correlación	0,996

## Valores de referencia

Valores de referencia recomendados para HbA1c [9]:

	mmol/mol IFCC	% NGSP
Pacientes no diabéticos	20 – 42	4 – 6
Objetivo de terapia	< 53	< 7
Modificación de terapia	> 64	> 8

Cada laboratorio debería comprobar la adecuación de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

## Valor límite de la HbA1c para el diagnóstico de la diabetes mellitus [12]:

Según la recomendación de la Asociación Americana de la Diabetes (American Diabetes Association/ADA):  
≥ 6.5 % (NGSP) (48 mmol/mol (IFCC))

Pacientes mostrando valores de HbA1c en el rango de 5,7 – 6,4 % (NGSP) o de 39 a 46 mmol/mol HbA1c (IFCC) corren el riesgo de desarrollar la diabetes.

## Bibliografía

- 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.

## Fabricante



DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania

## 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!