

ⓈⓃⓈ HbA1c FS*

CODE CQN : HT

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de l'hémoglobine A1c dans le sang total sur systèmes photométriques

Présentation

Référence	Taille coffret
1 3329 99 10 930	R1 3 x 20 mL + R2 2 x 10 mL + R3 1 x 10 mL
1 3329 99 10 935	R1 2 x 15 mL + R2 1 x 10 mL + R3 1 x 5 mL
1 3329 99 10 380	R1 2 x 15 mL + R2 1 x 10 mL + R3 1 x 5 mL
1 4570 99 10 113	1 x 500 mL Solution hémolytante oneHbA1c

Intérêt Clinique [1,2,12]

L'hémoglobine A1c (HbA1c) est une hémoglobine glyquée, générée par une réaction non enzymatique du glucose avec l'hémoglobine native. Ce processus se déroule en permanence, aussi longtemps qu'un érythrocyte se trouve dans la circulation sanguine (durée de vie des érythrocytes : 100 à 120 jours). L'ampleur de la glycation est directement proportionnelle à la concentration de glucose sanguin. La proportion d'HbA1c de l'hémoglobine totale intègre le taux de glycémie moyen des 6 à 8 dernières semaines (en raison de la cinétique du métabolisme des érythrocytes, cette période est plus touchée par le taux de glycémie que les semaines précédentes). L'HbA1c sert par conséquent d'indicateur à long terme de la glycémie pour le contrôle rétrospectif de l'évolution du diabète sucré. Des études cliniques ont montré qu'un bon équilibre de la valeur de l'HbA1c peut empêcher ou retarder la survenue de séquelles diabétiques tardives. Le test de l'HbA1c sert également pour diagnostiquer le diabète mellitus.

Des valeurs faussement basses (HbA1c basse malgré une glycémie élevée) peuvent survenir dans le cas d'affections liées à une réduction de la durée de vie des érythrocytes (certaines affections hématologiques) ou dans le cas d'une perte sanguine importante au cours des semaines précédentes (proportion plus élevée de jeunes érythrocytes). Des valeurs faussement élevées (HbA1c élevée malgré une glycémie normale) ont été observées dans le cas d'anémie ferriprive (proportion élevée de vieux érythrocytes). De telles affections doivent être considérées lors de l'interprétation clinique des valeurs de l'HbA1c.

Méthode et Principe

Test immunoturbidimétrique à particules renforcées
La détermination de l'HbA1c est réalisée directement sans mesure de l'hémoglobine totale.

L'hémoglobine totale et l'HbA1c de l'hémolytate 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 à son tour est proportionnelle au pourcentage d'HbA1c de l'échantillon.

Standardisation

L'essai a été standardisé suivant la méthode de référence reconnue IFCC [3].

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

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

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

a : Valeurs IFCC en mmol/mol
b : Valeurs NGSP en %

IFCC : International Federation of Clinical Chemistry [3,4,9]
DCCT : Diabetes Control and Complications Trial [5]
NGSP : National Glycohemoglobin Standardization Program [6]

Concentrations de HbA1c et Concentrations Moyennes de Glucose [10]

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) :

Conc. moyenne de glucose [mg/dL] : = 2,63 x HbA1c^a + 15,01
Conc. moyenne de glucose [mmol/L] : = 0,146 x HbA1c^a + 0,829
a : Valeurs HbA1c en mmol/mol IFCC

Standardisation selon NGSP :

Concentration moyenne de glucose [mg/dL] : = 28,7 x HbA1c^b - 46,7
Concentration moyenne de glucose [mmol/L] : = 1,59 x HbA1c^b - 2,59
b : 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

R1 :	Tampon	20 mmol/L
	Latex	0,14 %
R2 :	Tampon	10 mmol/L
	Anticorps de souris anti-HbA1c humain monoclonal	55 mg/L
R3 :	Tampon	10 mmol/L
	Anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG de souris	670 mg/L

Conservation et Stabilité 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. Ne pas congeler les réactifs et les conserver à l'abri de la lumière.

Préparation des Réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

En cas d'utilisation sur des analyseurs ne pouvant pas procéder trois réactifs, les réactifs 2 et 3 doivent être prémélangés avant l'emploi. Transvasez exactement 5 mL du flacon R3 dans celui du R2, puis immédiatement bien mélanger le tout.

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

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 faussées [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.
- Il est nécessaire de purifier les cuvettes immédiatement après une mesure de l'HbA1c. Pour le nettoyage des cuvettes, veuillez utiliser la solution alcaline recommandée par le fabricant du système.
- Uniquement à usage professionnel !

Gestion des Déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Matériels Nécessaires

Équipement général de laboratoire

Spécimen

Sang total recueilli sur EDTA
Éliminer les échantillons contaminés.

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
Échantillon/Calibrant/Contrôle 20 µL
Mélanger et laisser reposer 5 minutes ou jusqu'à l'hémolyse complète.

Stabilité des Échantillons [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

Mode Opérateur

Des notices d'application adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	660 nm
Trajet optique	1 cm
Température de mesure	+37 °C
Mesure	Contre l'air

Système en tri réactifs – prêt à l'emploi

Echantillon/Calibrant	15 µL
Réactif 1	600 µL
Mélanger, incubé pendant 2 minutes, puis ajouter :	
Réactif 2	200 µL
Mélanger, incubé pendant 3 min, puis ajouter :	
Réactif 3	100 µL
Mélanger, lire l'absorbance après exactement 1 min et lire l'absorbance après un total de exactement 5 min.	

Système en bi réactifs – R2/R3 pré-mélangés

Echantillon/Calibrant	15 µL
Réactif 1	600 µL
Mélanger, incubé pendant 5 minutes, puis ajouter :	
Réactif 2/3	300 µL
Mélanger, lire l'absorbance après exactement 1 min et lire l'absorbance après un total de exactement 5 min.	

Calcul

La concentration en HbA1c des échantillons inconnus à doser se calcule à partir d'une courbe de calibration utilisant un modèle mathématique approprié, p.ex. du genre spline. La courbe de calibration est obtenue à partir de quatre calibrants à différents niveaux de concentration et de la solution NaCl (9 g/L) pour la détermination de la valeur zéro.

Stabilité de la calibration :

Système en tri réactifs	4 semaines
Système en bi réactifs	4 semaines

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**Données évaluées sur Hitachi 917****Domaine de mesure**

Le test a un domaine de mesure de 30 à 150 mmol/mol d'HbA1c selon IFCC (4,9 – 16 % selon 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.

Spécificité/Interférences

L'étude sur les interférences a été conduit 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, ainsi que pour le système tri réactifs et système bi réactifs

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.

Sensibilité/Limite de détection

La limite de détection analytique (LOQ) est de 30 mmol/mol d'HbA1c selon IFCC (4.9 % HbA1c selon DCCT/NGSP).

Précision

Valeurs selon IFCC ; Hitachi 917, système tri réactifs

Intra série n = 20	Moyenne [mmol/mol]	SD [mmol/mol]	CV [%]
Echantillon 1	34,1	0,541	1,59
Echantillon 2	57,1	0,555	0,973
Echantillon 3	84,7	1,02	1,21

De jour en jour n = 20	Moyenne [mmol/mol]	SD [mmol/mol]	CV [%]
Echantillon 1	37,6	0,771	2,05
Echantillon 2	54,3	0,772	1,42
Echantillon 3	85,3	1,50	1,76

Précision totale CLSI n = 80	Moyenne [mmol/mol]	SD [mmol/mol]	CV [%]
Echantillon 1	37,6	0,776	2,06
Echantillon 2	54,7	0,953	1,74
Echantillon 3	85,7	1,62	1,89

Comparaison de méthodes

Une comparaison de la méthode oneHbA1c FS de DiaSys (y) avec une méthode du commerce (x), réalisée sur 88 échantillons, a donné les résultats suivants (selon ICFF) :

$$y = 1,05x - 2,94 \text{ mmol/mol}; r = 0,998$$

Une comparaison de la méthode oneHbA1c FS de DiaSys (y) avec une méthode HPLC (x), réalisée sur 100 échantillons, a donné les résultats suivants (selon IFCC) :

$$y = 1,04x - 1,75 \text{ mmol/mol}; r = 0,997$$

Valeurs Usuelles

Valeurs de références recommandées pour HbA1c [8]

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

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Valeur limite de l'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

- Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 142-48.
- 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.
- Jeppsson JO, 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.
- 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.
- Data on file at DiaSys Diagnostic Systems GmbH.
- 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.
- Nordin G, Dybkær R. Recommendation for term and measurement unit for "HbA1c". Clin Chem Lab Med 2007; 45(8): 1081-2.
- Sacks DB. Translating Hemoglobin A1c into Average Blood Glucose: Implications for Clinical Chemistry. Clinical Chemistry 2008; 54: 1756-8.
- 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)