

# ⊙ⓃⓈ HbA1c FS\*

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von Hämoglobin A1c in Vollblut an photometrischen Systemen

## Bestellinformation

Best.-Nr.	Packungsgröße
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 90 380	R1 2 x 15 mL + R2 1 x 10 mL + R3 1 x 5 mL
1 4570 99 10 113	1 x 500 mL oneHbA1c Hämolsierlösung

## Zusammenfassung [1,2,12]

Hämoglobin A1c (HbA1c) ist ein glykiertes Hämoglobin, das durch eine nicht-enzymatische Reaktion von Glucose mit nativem Hämoglobin entsteht. Dieser Prozess läuft ständig ab solange sich ein Erythrozyt im Blutkreislauf befindet (Erythrozytenlebensdauer 100 – 120 Tage). Das Ausmaß der Glykierung ist direkt proportional zur Blutglucosekonzentration. Der Anteil von HbA1c am Gesamthämoglobin integriert den mittleren Blutglucosespiegel der letzten 6 – 8 Wochen (dieser Zeitraum ist aufgrund der Kinetik des Erythrozytenumsatzes vom Blutglucosespiegel stärker betroffen als die vorangegangenen Wochen). HbA1c dient daher als Glykämie-Langzeitparameter zur retrospektiven Verlaufskontrolle bei Diabetes mellitus. Klinische Studien haben gezeigt, dass eine gute Einstellung des HbA1c-Wertes das Auftreten diabetischer Spätfolgen verhindern oder verzögern kann. Darüber hinaus kann die HbA1c-Testung auch zur Diagnose von Diabetes Mellitus verwendet werden.

Falsch niedrige Werte (niedriges HbA1c trotz hoher Blutglucose) können bei Erkrankungen auftreten, die mit einer verkürzten Erythrozytenlebensdauer verbunden sind (bestimmte hämatologische Erkrankungen) oder durch größeren Blutverlust in den vorangegangenen Wochen (höherer Anteil an jungen Erythrozyten). Falsch hohe Werte (hohes HbA1c trotz normaler Blutglucose) wurden bei Eisenmangelanämie beobachtet (hoher Anteil an alten Erythrozyten). Derartige Erkrankungen müssen bei der klinischen Interpretation von HbA1c-Werten berücksichtigt werden.

## Methode und Prinzip

Partikel verstärkter immunturbidimetrischer Test

Die Bestimmung von HbA1c erfolgt direkt ohne Messung von Gesamthämoglobin.

Gesamthämoglobin und HbA1c im Hämolsat 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 [3].

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

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

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

a: IFCC-Werte in mmol/mol

b: NGSP-Werte in %

IFCC: International Federation of Clinical Chemistry [3,4,9]

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial [5]

NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program [6]

## HbA1c- und Mittlere Glucosekonzentration [10]

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):

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

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

a: HbA1c-Werte in mmol/mol IFCC

Standardisierung nach NGSP:

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

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

b: HbA1c-Werte in % NGSP

Für die lineare Regressionsgleichung ergaben sich bei getesteten Individuen keine bedeutenden Unterschiede im Hinblick auf Geschlecht, bestehende oder nicht-bestehende Diabeteserkrankung, 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

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

### Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Bei Geräten, die nicht mit drei Reagenzkomponenten arbeiten können, angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn Kontamination vermieden wird. Reagenzien nicht einfrieren und lichtgeschützt aufbewahren.

### Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Bei Geräten, die nicht mit drei Reagenzkomponenten arbeiten können, müssen Reagenz 2 und 3 vorgemischt werden. Dazu werden exakt 5 mL R3 in eine Flasche R2 überführt und sofort gründlich gemischt.

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

### 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. Direkt im Anschluss an die HbA1c-Messung ist eine Reinigung der Küvetten notwendig. Benutzen Sie dazu die von dem Analysengerätehersteller empfohlene, alkalische Küvettenwaschlösung.
6. Nur für professionelle Anwendung!

### Entsorgung

Beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

### Benötigte Materialien

Übliche Laborausrüstung

### Probenmaterial

EDTA-Vollblut

Kontaminierte Proben verwerfen.

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 Hämolsierlösung Bestell-Nr. 1 4570 99 10 113 erforderlich.

Hämolsierlösung	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
Hämolsat	10 Stunden	bei	15 – 25 °C
Hämolsat	10 Tage	bei	2 – 8 °C

### Testschema

**Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.**

Wellenlänge	660 nm
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	37 °C
Messung	Gegen Luft

### 3-Komponenten-System – gebrauchsfertig

<b>Probe oder Kalibrator</b>	15 µL
<b>Reagenz 1</b>	600 µL
Mischen, 2 Min. inkubieren, dann zufügen:	
<b>Reagenz 2</b>	200 µL
Mischen und 3 Min. inkubieren, dann zufügen:	
<b>Reagenz 3</b>	100 µL
Mischen, Extinktion nach <b>genau</b> 1 Min. ablesen und nach insgesamt <b>genau</b> 5 Minuten nochmals die Extinktion ablesen.	

## 2-Komponenten System – vorgemischtes R2/R3

<b>Probe oder Kalibrator</b>	15 µL
<b>Reagenz 1</b>	600 µL
Mischen, 5 Min. inkubieren, dann zufügen:	
<b>Reagenz 2/3</b>	300 µL
Mischen, Extinktion nach <b>genau</b> 1 Min. ablesen und nach insgesamt <b>genau</b> 5 Minuten nochmals die Extinktion ablesen.	

## Berechnung

Aus den abgelesenen Extinktionen wird ein  $\Delta E$  berechnet.  
 $\Delta E = (E_2 - E_1)$  Probe/Kalibrator

Die HbA1c-Konzentration unbekannter Proben wird über eine Kalibrationskurve berechnet, unter Verwendung eines geeigneten mathematischen Modells wie z.B. Spline. Die Kalibrationskurve wird mit vier Kalibratoren verschiedener Konzentrationen und NaCl-Lösung (9 g/L) für die Bestimmung des Nullpunkts erstellt.

Stabilität der Kalibration: 3-Komponenten-System 4 Wochen  
 2-Komponenten-System 4 Wochen

## 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

### Datenerhebung am Hitachi 917

#### Messbereich

Der Test hat einen Messbereich von 30 – 150 mmol/mol HbA1c nach IFCC (4,9 – 16 % nach DCCT/NGSP), mindestens aber bis zur Konzentration des höchsten Kalibrators. Der Test ist für eine Gesamthämoglobinkonzentration von 6,6 – 26 g/dL geeignet.

#### 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, sowie für das 3-Komponenten-System und das 2-Komponenten-System.

Störende Substanz	Interferenzen <7 % DCCT/NGSP und <10 % IFCC
<b>Ascorbinsäure</b>	bis 60 mg/dL
<b>Bilirubin</b> (konjugiert und unkonjugiert)	bis 60 mg/dL
<b>Glukose</b>	bis 1000 mg/dL
<b>Hämoglobin, acetyliert</b>	bis 10 mmol/L
<b>Hämoglobin, carbamylisiert</b>	bis 10 mmol/L
<b>Lipämie</b> (Triglyzeride)	bis 2000 mg/dL
<b>N-Acetylcystein (NAC)</b>	bis 1000 mg/L
<b>Harnstoff</b>	bis 300 mg/dL
<b>Rheumafaktor</b>	bis 500 IU/mL
Durch die Schiffsche 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.

#### Testempfindlichkeit/Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (LOQ) ist 30 mmol/mol HbA1c nach IFCC (4,9 % HbA1c nach DCCT/NGSP).

## Präzision

(Hitachi 917, 3-Komponenten-System; Werte nach IFCC)

In der Serie n = 20	Mittelwert [mmol/mol]	Standard- abweichung [mmol/mol]	VK [%]
Probe 1	34,1	0,541	1,59
Probe 2	57,1	0,555	0,973
Probe 3	84,7	1,02	1,21

Von Tag zu Tag n = 20	Mittelwert [mmol/mol]	Standard- abweichung [mmol/mol]	VK [%]
Probe 1	37,6	0,771	2,05
Probe 2	54,3	0,772	1,42
Probe 3	85,3	1,50	1,76

Totale Präzision CLSI n = 80	Mittelwert [mmol/mol]	Standard- abweichung [mmol/mol]	VK [%]
Probe 1	37,6	0,776	2,06
Probe 2	54,7	0,953	1,74
Probe 3	85,7	1,62	1,89

## Methodenvergleich

Bei einem Vergleich von DiaSys oneHbA1c FS (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 88 Proben folgende Ergebnisse erhalten (IFCC):

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

Bei einem Vergleich von DiaSys oneHbA1c FS (y) mit einem HPLC-Test (x) wurden mit 100 Proben folgende Ergebnisse erhalten (IFCC):

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

## Referenzbereiche

Vorgeschlagene Referenzwerte für HbA1c [8]

	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

- 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. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. p. 790-6.
- 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.
- 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.
- Panthegeini 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.

## Hersteller



DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
 Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland

844 3329 10 01 00

Juli 2019/16