

⊙ⓃⓔHbA1c IS*

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de l'hémoglobine A1c dans le sang total sur système InnovaStar®

Présentation

Référence

Matériel fourni

1 3329 99 10 760 100 déterminations + 10 x 1800 µL solution de nettoyage « cleaner » (n° d'article 970112) + 1 x ParamCard (n° d'article 970116)

Matériel requis mais non fourni

970 100 Système InnovaStar®
970 113 10 x 100 cupules échantillons InnovaStar® 10/500
920 709 10 x 100 tubes capillaires « open end » de 10 µL (hépariné)
970 115 Solution de système InnovaStar® (300 mL)

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. De surcroît, la détermination de l'HbA1c peut aider dans le diagnostic du diabète mellitus. Etant donné que la quantité d'HbA1c dépend également de la quantité totale d'hémoglobine, le pourcentage d'HbA1c de l'hémoglobine totale est également exprimé.

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

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 de 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 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 les formules suivantes :

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

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

a : Valeurs NGSP en %

b : Valeurs IFCC en mmol/mol

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

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial [5]

NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program [6]

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) :

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

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

b : Valeurs HbA1c en mmol/mol IFCC

Standardisation selon NGSP :

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

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

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 dans le 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

Préparation et Conservation des réactifs

Les réactifs, conservés entre +2 °C et +8 °C, sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée sur l'emballage.

Conserver les réactifs à l'abri de la lumière. Ne pas congeler le réactif ! Ne pas utiliser des cartouches déjà ouvertes ou endommagées !

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi. Remettre le réactif à température ambiante. S'assurer que le réactif est situé tout en bas de la cartouche.

Avertissements et précautions d'emploi

1. Le réactif 2 contient de la matière animale. Manier le produit comme potentiellement infectieux selon les précautions universelles et de bonne pratique de laboratoire.
2. Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs erronées [13].
3. Des anticorps hétérophiles dans les spécimens de patients peuvent produire des valeurs faussées.
4. 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.
5. Uniquement à usage professionnel !

Élimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Spécimen

Sang total capillaire (prélevé avec tube capillaire hépariné), sang total veineux recueilli sur EDTA

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

Éliminer les échantillons contaminés.

Préparation des échantillons :

Pour la préparation des échantillons, il faut utiliser des cupules échantillons InnovaStar® 10/500 (godets magenta) ainsi que des tubes capillaires 'open end' (10 µL). Prélever le spécimen avec un tube capillaire 'open end' comme décrit dans le manuel. Mettre le tube capillaire rempli dans la cupule échantillon. Mélanger et commencer à mesurer immédiatement.

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 opératoire

L'application sera lue via la ParamCard (voir manuel d'utilisation InnovaStar®).

Pour chaque dosage d'HbA1c, mettre une cupule contenant la solution 'cleaner' (cupule orange) sur la dernière position du chariot.

Calibration et calcul

La calibration est mémorisée sur la ParamCard qui se trouve dans le coffret du réactif. Elle doit être lu après la réception du réactif (voir manuel d'utilisation InnovaStar®). La stabilité de calibration est de 9 mois. L'appareil signale qu'une recalibration soit nécessaire 14 jours avant cette date. A cet effet, un code spécifique pour le lot correspondant doit être entré pour pouvoir enregistrer la courbe de recalibration. Pour le procédé d'enregistrement du code, voir manuel d'utilisation InnovaStar®. Veuillez vérifier le succès de l'enregistrement de la courbe de recalibration à l'aide d'une mesure des contrôles. La calibration a été réalisée avec des calibrants de l'IFCC et est donc traçable à la méthode approuvée de l'IFCC.

Contrôles

Pour le contrôle de qualité interne, utiliser les contrôles DiaSys TruLab HbA1c liquid à chaque jour de la mesure. Il est recommandé d'effectuer un contrôle de qualité externe.

Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Taille coffret
TruLab HbA1c liquid niveau 1	5 9790 99 10 060	1 x 0,25 mL
TruLab HbA1c liquid niveau 2	5 9800 99 10 060	1 x 0,25 mL

Performances

Domaine de mesure

Le domaine de mesure du réactif DiaSys oneHbA1c IS s'étend de 30 à 150 mmol/mol d'HbA1c selon IFCC, ou de 4,9 – 16 % selon DCCT/NGSP.

Ce test convient lorsque la concentration d'hémoglobine totale est comprise entre 66 à 260 g/L.

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.

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 1500 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 A2 élevé.

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

Sensibilité/Limite de détection

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

Etude de précision (Valeurs selon DCCT/NGSP)			
Intra série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [% DCCT/NGSP]	5,58	7,63	10,8
Coefficient de variation [%]	0,985	1,27	1,77
Inter série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [% DCCT/NGSP]	5,46	7,23	10,8
Coefficient de variation [%]	0,892	1,19	1,05
Précision totale CLSI (n=80)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [% DCCT/NGSP]	5,41	7,19	10,7
Coefficient de variation [%]	2,28	1,90	2,07

Comparaison de méthodes

Une comparaison entre la méthode oneHbA1c IS de DiaSys (y) et une méthode HPLC (x), réalisée sur 100 échantillons, a donné les résultats suivants (selon DCCT/NGSP) : $y = 1,08x - 0,435\%$; $r = 0,997$

Valeurs de référence

Valeurs de références recommandées pour HbA1c : [8]

	mmol/mol IFCC	% DCCT/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)