

## ⊙ⓃⓔHbA1c IS\*

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von Hämoglobin A1c in Vollblut am InnovaStar®

### Bestellinformation

Best.-Nr. 1 3329 99 10 760	100 Bestimmungen + 10 x 1800 µL Cleaner (Artikelnummer 970112) + 1 x ParamCard (Artikelnummer 970116)
970 100	InnovaStar® (Gerät)
970 113	10 x 100 Probengefäße InnovaStar® 10/500
920 709	10 x 100 "open-end"- Kapillaren 10 µL (heparinisiert)
970 115	300 mL Systemlösung InnovaStar®

### 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 Blutglucose-Spiegel 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 Bestimmung zur Hilfe der Diagnose des Diabetes Mellitus verwendet werden. Da die HbA1c-Menge auch abhängig ist von der Gesamtmenge des Hämoglobins, wird der prozentuelle Anteil des HbA1c am Gesamthämoglobin angegeben. 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

Partikelverstärkter Immunturbidimetrischer Test  
Die Bestimmung von HbA1c erfolgt direkt ohne Messung von Gesamthämoglobin.

### Prinzip

Gesamthämoglobin und HbA1c im Hämolyat 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: NGSP-Werte in %  
b: IFCC-Werte in 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- 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):

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

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

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

<b>R1:</b>	Puffer	20 mmol/L
	Latex	0,14 %
<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

Die Reagenzien sind bei 2 – 8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn es bei 2 – 8 °C und lichtgeschützt gelagert wird. Reagenzien nicht einfrieren! Beschädigte oder geöffnete Reagenzkartuschen dürfen nicht verwendet werden!

#### Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig. Bringen Sie das Reagenz auf Raumtemperatur. Stellen Sie sicher, dass sich das Reagenz auf dem Boden der Kartusche befindet.

#### 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 gesetzlichen Vorschriften.

#### Probenmaterial

Kapilläres Vollblut (entnommen mit heparinierter Kapillare), venöses Vollblut mit EDTA

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

Kontaminierte Proben verwerfen.

#### Probenvorbereitung

Für die Probenvorbereitung werden die Probengefäße InnovaStar® 10/500 (magenta cups) und 10 µL „open-end“ Kapillaren (heparinisiert) benötigt. Entnehmen Sie die Patientenprobe mit Hilfe der „open-end“ Kapillare wie im Benutzerhandbuch beschrieben. Überführen Sie die gefüllte Kapillare in das Probengefäß. Die Probe mischen. Messung direkt starten.

## Haltbarkeit der Proben [7]

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

## Testdurchführung

Applikationen werden über die ParamCard gelesen (siehe Benutzerhandbuch InnovaStar®)

Bei jeder HbA1c-Messung sollte ein orangefarbenes Gefäß, gefüllt mit Cleaner, auf der letzten Schlittenposition mitgeführt werden.

## Kalibration und Berechnung

Die Kalibration ist auf der ParamCard gespeichert und wird nach Erhalt des Reagenzes eingelesen (siehe Benutzerhandbuch InnovaStar®). Die Karte ist im Reagenzkit enthalten. Die Kalibrationsstabilität beträgt 9 Monate. Vierzehn Tage vor dem Rekalibrationstermin wird von dem Gerät auf die Rekalibration hingewiesen. Dafür wird ein Lot-spezifischer Code für die Registrierung einer Rekalibrationskurve in das Gerät eingegeben. Die Vorgehensweise zur Eingabe des Codes ist dem Benutzerhandbuch für InnovaStar® zu entnehmen. Die erfolgreiche Erfassung der Rekalibrationskurve muss durch die Messung von Kontrollen verifiziert werden. Die Kalibration wird mit IFCC Kalibratoren durchgeführt und ist somit rückführbar auf die anerkannte IFCC-Referenzmethode.

## Kontrollen

Für die interne Qualitätskontrolle sollte eine DiaSys TruLab HbA1c liquid Kontrolle benutzungstägig gemessen werden. Eine externe Qualitätskontrolle wird empfohlen.

Jeder Anwender sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruLab HbA1c liquid Level 1	5 9790 99 10 060	1 x 0,25 mL
TruLab HbA1c liquid Level 2	5 9800 99 10 060	1 x 0,25 mL

## Leistungsmerkmale

### Messbereich

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

### 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, carbamylt	bis 10 mmol/L
Lipämie (Triglyzeride)	bis 2000 mg/dL
N-Acetylcystein (NAC)	bis 1500 mg/L
Harnstoff	bis 300 mg/dL
Rheumafaktor	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 A2 **erhöht** treten keine signifikanten Interferenzen auf.

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

### Testempfindlichkeit/Nachweisgrenze

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

Präzision (Werte nach DCCT/NGSP)			
In der Serie (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [% DCCT/NGSP]	5,58	7,63	10,8
Variationskoeffizient [%]	0,985	1,27	1,77
Von Tag zu Tag (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [% DCCT/NGSP]	5,46	7,23	10,8
Variationskoeffizient [%]	0,892	1,19	1,05
Total Präzision CLSI (n=80)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [% DCCT/NGSP]	5,41	7,19	10,7
Variationskoeffizient [%]	2,28	1,90	2,07

## Methodenvergleich

Bei einem Vergleich von DiaSys oneHbA1c IS (y) mit einem HPLC-Test (x) wurden mit 100 Proben folgende Ergebnisse erhalten (DCCT/NGSP):  
 $y = 1,08 x - 0,435 \%$ ;  $r = 0,997$

## Referenzbereich

Vorgeschlagene Referenzwerte für HbA1c: [8]

	mmol/mol	%
	IFCC	DCCT/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 den Empfehlungen der Amerikanischen Diabetes-Vereinigung (ADA):  
 $\geq 6,5 \%$  (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. 3rd 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.
- 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.

## Hersteller



DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
 Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland