

DCA™ Systems

Hemoglobin A_{1c} Reagent Kit

For Use With DCA™ Analyzers

A Quantitative Assay for Hemoglobin A1c in Blood

INTENDED USE:

This assay provides a convenient, quantitative method for measuring the percent concentration of hemoglobin A1c in blood. The measurement of hemoglobin A1c concentration is recommended for monitoring the long-term care of persons with diabetes.

The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) showed the importance of improved glycemic control in reducing the risk and progression of the complications of diabetes.¹ Glycemic control was determined by the measurement of hemoglobin A1c. The American Diabetes Association (ADA) recommends measurement of hemoglobin A1c levels two to four times per year, less frequently in patients with stable control.²

This assay is based on a latex immunoagglutination inhibition methodology.³ After loading the reagent test cartridge into the DCA™ Analyzer, the test result is displayed in six minutes.

The DCA Hemoglobin A1c assay is for use in laboratories such as physician office laboratories, clinics, and hospitals.

INFORMATION REGARDING CLIA WAIVER (US ONLY):

The DCA Vantage system is CLIA-waived only when used with Siemens-branded DCA 2000+ or DCA Systems HbA1c cartridges.

A certificate of CLIA waiver is required to perform the test in a waived setting.

To obtain a Certificate of Waiver, contact your state department of health or visit the CMS website for an application, form CMS-116.

Failure to adhere to the instructions for use, including instructions for limitations or intended use, and for performing QC testing, is considered as off-label use, resulting in the test being categorized as high complexity and subject to all CLIA regulation.⁵

SUMMARY AND EXPLANATION:

Hemoglobin A1c is formed by the non-enzymatic glycation of the N-terminus of the β-chain of hemoglobin Ao.⁴ The level of hemoglobin A1c is proportional to the level of glucose in the blood over a period of approximately two months.⁵ Thus, hemoglobin A1c is accepted as an indicator of the mean daily blood glucose concentration over the preceding two months.^{5,7} Studies have shown that the clinical values obtained through regular measurement of hemoglobin A1c lead to changes in diabetes treatment and improvement of metabolic control as indicated by a lowering of hemoglobin A1c values.^{5,9}

CHEMICAL PRINCIPLES OF PROCEDURE:

Both the concentration of hemoglobin A1c specifically and the concentration of total hemoglobin are measured, and the ratio reported as percent hemoglobin A1c.¹⁰

All of the reagents for performing both reactions are contained in the DCA Hemoglobin A1c (HbA1c) **REAGENT CARTRIDGE** Reagent Cartridge (Figure 1).

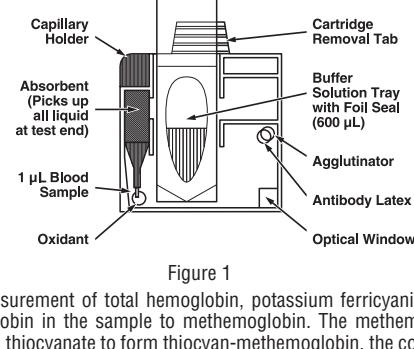


Figure 1

For the measurement of total hemoglobin, potassium ferricyanide is used to oxidize hemoglobin in the sample to methemoglobin. The methemoglobin then complexes with thiocyanate to form thiocyanate-methemoglobin, the colored species that is measured. The extent of color development at 531 nm is proportional to the concentration of total hemoglobin in the sample.

For the measurement of specific HbA1c, an inhibition of latex agglutination assay is used (Figure 2).

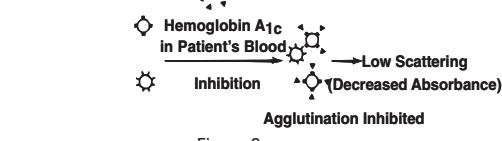
Assay Principle
Inhibition Of Latex Agglutination

Figure 2

An agglutinator (synthetic polymer containing multiple copies of the immunoreactive portion of HbA1c) causes agglutination of latex coated with HbA1c specific mouse monoclonal antibody. This agglutination reaction causes increased scattering of light, which is measured as an increase in absorbance at 531 nm. HbA1c in whole blood specimens competes for the limited number of antibody-latex binding sites causing an inhibition of agglutination and a decreased scattering of light. The decreased scattering is measured as a decrease in absorbance at 531 nm. The HbA1c concentration is then quantified using a calibration curve of absorbance versus HbA1c concentration.

The percent HbA1c in the sample is then calculated as follows:

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{[\text{HbA1c}]}{[\text{Total Hemoglobin}]} \times 100$$

The IFCC concentration in mmol/mol HbA1c is calculated as follows:

$$\text{HbA1c mmol/mol} = (\text{HbA1c mmol}) / (\text{Total hemoglobin mol})$$

All measurements and calculations are performed automatically by the DCA Analyzer, and the screen displays the HbA1c at the end of the assay. Values in this insert are in % HbA1c NGSP and where shown in parentheses, as mmol/mol HbA1c IFCC.

KIT CONTENTS: • 10 Reagent Cartridges • Calibration Card
• 11 Capillary Holders • 2 Package Inserts

REAGENTS:

Antibody Latex: HbA1c-specific mouse monoclonal antibody adsorbed onto latex particles. 2.5% w/v antibody-latex in 10 mM glycine buffer; 16% w/v nonreactive ingredients (10 μL dried in each reagent cartridge).

Agglutinator: 0.005% w/v poly (aspartic acid) polymer covalently attached to the HbA1c hapten in 20 mM sodium citrate buffer containing 0.1% w/v bovine serum albumin and 1% w/v nonreactive ingredients (10 μL dried in each cartridge).

Buffer Solution: 8.1% w/v lithium thiocyanate, 0.01% digitonin in 200 mM glycine buffer (0.6 mL in each cartridge).

Oxidant: 1.5% w/v potassium ferricyanide in water with 21% w/v nonreactive ingredients (10 μL dried in each cartridge).

CAUTION:

- DCA HbA1c Reagent Cartridges are for **IVD** *in vitro* diagnostic use.
- Safety glasses, gloves and lab coat are recommended when using the DCA System.

WARNING:

- To prevent injury, do not force removal of a cartridge from the instrument. Consult the operator's guide to verify the proper removal technique. Contact your technical service provider if the problem cannot be solved.

TEMPERATURE INDICATOR:

Upon receipt of this kit, check the temperature indicator located on the front of the carton. If the indicator has turned red, do not use the reagent cartridges. Note time and date received, and for assistance in obtaining a replacement kit, refer to instructions given on the carton.

STORAGE:

2°C Store reagent cartridges refrigerated at 2° to 8°C (36° to 46°F).

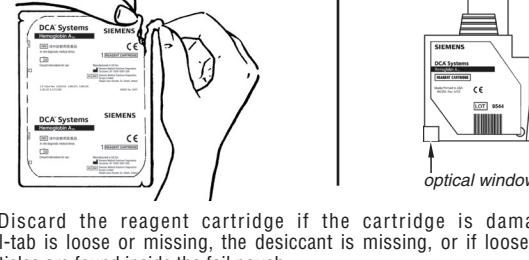
15°C to 30°C Capillary holders may be stored refrigerated or at room temperature (15° to 30°C/59° to 86°F).

USE LIFE:

Reagent cartridges can be kept for up to three months at room temperature anytime before the **(EXP)** expiration date. Record on the carton, the date the carton was placed at room temperature.

RECOMMENDED PROCEDURES FOR HANDLING REAGENT CARTRIDGES:

To open the foil pouch, tear down from the corner notch (until the entire long side of the pouch is open).

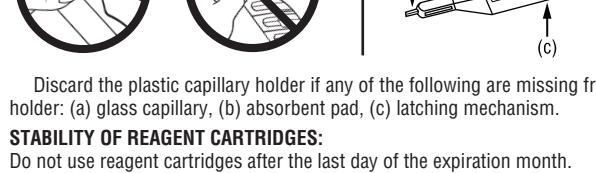


Discard the reagent cartridge if the cartridge is damaged, the pull-tab is loose or missing, the desiccant is missing, or if loose desiccant particles are found inside the foil pouch.

Upon removal from refrigerated storage, allow the reagent cartridge to warm up at room temperature for 10 minutes (in the unopened foil pouch) or 5 minutes (if removed from the foil pouch). **After opening the foil pouch, the reagent cartridge must be used within (1) hour.**

RECOMMENDED PROCEDURES FOR HANDLING CAPILLARY HOLDERS:

Unused capillary holders may be saved and used with any lot of reagent cartridges. Each capillary holder is packaged separately in a blister package. To remove the capillary holder, remove the white plastic film from the clear plastic blister. DO NOT PUSH (a) the capillary holder out of or through the plastic.



Discard the plastic capillary holder if any of the following are missing from the holder: (a) glass capillary, (b) absorbent pad, (c) latching mechanism.

STABILITY OF REAGENT CARTRIDGES:

Do not use reagent cartridges after the last day of the expiration month.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION:

The provided glass capillary (within plastic capillary holder) holds 1 μL of whole blood. The blood sample may be obtained by finger stick or venipuncture. Acceptable anticoagulants are EDTA, heparin, fluoride/oxalate, and citrate.

Important: After the glass capillary is filled with sample, analysis must begin within 5 minutes.

EDTA, heparin, fluoride/oxalate, and citrate preserved whole blood may be stored at -70° to 5°C (-94° to 41°F) for two weeks, or up to 25°C (77°F) for one week.

Do not refreeze previously frozen blood samples or store in a self-defrosting freezer. Allow blood sample to reach room temperature. Mix blood sample thoroughly before use.

TESTING PROCEDURE:

See the Quick Reference Guide and Operator's Guide for detailed illustrated directions.

CALIBRATION:

Instrument: The DCA Analyzer is calibrated by the manufacturer. Thereafter, the instrument automatically self-adjusts during first-time power-up and during each assay. In the event the system is unable to make appropriate internal adjustments, an error message is displayed.

Reagent: Before reagent cartridges are released by the manufacturer, each lot of reagent cartridges undergoes a thorough analysis and characterization. Values of calibration parameters based on a DCCT reference method are determined that provide for optimal reagent performance. DCA HbA1c test method is National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) Certified and is traceable to International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) reference materials and test methods. The values for the calibration parameters are encoded onto the calibration card provided with each lot of reagent cartridges. Prior to use of each new lot of reagent cartridges, scan the calibration card into the analyzer.

Before the sample can be analyzed, the reagent cartridge barcode (containing lot number and test name) is scanned. This accesses the appropriate calibration parameter values (calibration curve) for the particular lot number of reagent cartridges in use. If no calibration curve is in the instrument for the particular lot number of cartridges in use, the instrument prompts the user to scan the calibration card.

The instrument can store two calibrations for the DCA HbA1c Assay. Each of two calibrations is for a different lot number.

When reagent cartridges are stored and used properly, acceptable performance up to the expiration date is ensured. To verify proper functioning of the DCA System, analyze DCA HbA1c Controls (refer to Quality Control section).

QUALITY CONTROL:

To assure quality of both testing procedures and patient results for hemoglobin A1c, the DCA System performs 48 optical, electronic, mechanical, and reagent systems checks during the course of each specimen assay. These checks include calibration verification during every test. If an assay or system error occurs during any individual measurement, the system automatically reports an error message, preventing the reporting of erroneous patient results.

CLIA WAIVED LABORATORIES:

It is recommended that quality control specimens be tested with each new lot of reagents, new shipment of reagents and monthly for reagents that have been stored for more than 30 days. QC testing is recommended to ensure reagent storage integrity, train and confirm performance acceptability for new users, and when patients' clinical conditions or symptoms do not match. Additional QC intervals may be required as per your laboratory procedures. Liquid ready-to-use controls are available; contact technical support for recommendations.

Compare QC results to those listed as acceptable by the QC manufacturer. If control results are not acceptable, do not test patient samples until the problem is resolved. Repeat control testing until results are acceptable.

For technical support assistance call (877) 229-3711.

ALL OTHER LABORATORIES:

The staff at each laboratory site can benefit by establishing a quality assurance plan, based on their institution's policies. Run quality control specimens under the following conditions:

- At regular intervals determined by the laboratory procedures
- With each new shipment of reagents
- With each new lot of reagents
- Each time a calibration card is scanned
- To train and confirm performance acceptability for new analysts
- When results do not match the patient's clinical condition or symptoms.

Good laboratory practices include a well-designed and implemented quality control process. These practices, for example, may involve:

- Proper storage and handling of reagent kits
- Careful sample collection and handling procedures
- Training of testing personnel
- Routine review of sample and control results
- Periodic quality system reviews
- Retention of quality control testing records.

If the problem cannot be corrected, or the reason for an out-of-limits result cannot be determined, contact the Authorized Representative nearest you.

RESULTS:

The displayed test result requires no further calculation. HbA1c concentrations in the following range are reported: 2.5% to 14.0% HbA1c NGSP (HbA1c range 4 mmol/mol to 130 mmol/mol IFCC).

The test is linear throughout this range.

Result preceded by a less than sign (<):

A less than sign in the display indicates a concentration below the lower limit of the test (under range). Report the result as being less than 2.5% HbA1c NGSP (4 mmol/mol HbA1c IFCC). This method does not provide for re-assay using a larger sample aliquot. Results less than 2.5% HbA1c NGSP (4 mmol/mol HbA1c IFCC) are rare and may indicate that the sample contains substantial amounts of fetal hemoglobin (does not react in the immunoassay); or that the patient may be suffering from hemolytic anemia or polycythemia (conditions which often result in a significant decrease in the life span of red blood cells).

Result preceded by a greater than sign (>):

A greater than sign in the display indicates a concentration above the upper limit of the test (over range). Report the result as being more than 14.0% HbA1c NGSP (130 mmol/mol HbA1c IFCC). This method does not provide for re-assay using a diluted sample. To obtain a more quantitative test value, use another test method.

All laboratory tests are subject to random error. If the test result is questionable, or if clinical signs and symptoms appear inconsistent with test results, re-assay the sample or confirm the result using another method.

LIMITATIONS OF PROCEDURE:

The DCA HbA_{1c} assay gives accurate and precise results over a range of total hemoglobin of 7 to 24 g/dL. Most patients will have hemoglobin concentrations within these values. However, patients with severe anemias may have hemoglobin concentrations lower than 7 g/dL, and patients with polycythemia may have hemoglobin concentrations above 24 g/dL. Patients known to have these conditions should be assayed by a test employing a different assay principle if their hemoglobin concentrations are outside of the acceptable range.

Glycated hemoglobin F is not measured by the DCA HbA_{1c} assay. At levels of hemoglobin F less than 10%, the DCA system accurately indicates the patient's glycemic control. However, at very high levels of hemoglobin F (> 10%), the amount of HbA_{1c} is lower than expected because a greater proportion of the glycated hemoglobin is in the form of glycated hemoglobin F. HbA_{1c} results for such patients do not accurately indicate the patient's glycemic control and should not be compared to published normal or abnormal values.

Conditions such as hemolytic anemia, polycythemia, homozygous HbS, and HbC, can result in decreased life span of the red blood cells, which causes HbA_{1c} results to be lower than expected, regardless of the method used, and not be related to glycemic control, when using published reference ranges.

Bilirubin, up to a level of 20 mg/dL, does not interfere with this assay.

Triglycerides, up to 1347 mg/dL in fresh whole blood, do not interfere with this assay. Highly lipemic blood samples stored for long periods of time or frozen should not be assayed using this method.

Rheumatoid factor, up to 1:5120 titer, does not interfere with this assay.

Expected serum levels of the following drugs commonly prescribed to persons with diabetes do not interfere with this assay: Diabinese, Orinase, Tolinase, Micronase, Dymelor, glipizide.

EXPECTED VALUES:

The expected normal range for % HbA_{1c} using the DCA HbA_{1c} test was determined by assaying blood samples from 103 apparently healthy individuals (fasting blood glucose < 120 mg/dL). No significant differences in normal range were observed among males and females, geographical location, or age groups evaluated. The mean HbA_{1c} value was 5.0% ± 0.35% (1 S.D.). The range was 4.2% to 6.5%. The 95% confidence limits (mean ± 2 S.D.) were 4.3% to 5.7%. These values are similar to those reported in the literature.⁷

Depending on the assay methodology used, HbA_{1c} is approximately 3% to 6% in non-diabetics, 6% to 8% in controlled diabetics and can be as much as 20% or higher in poorly controlled diabetics.¹¹ However, each laboratory should determine normal ranges to conform with the population being tested.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS:

The precision and correlation data are results of studies conducted by the staff at separate physician offices. The statistical calculations were performed following Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) procedures.

Precision: Multiple DCA 2000 HbA_{1c} assays of two different commercially prepared whole blood controls were performed by three independent investigators. The assigned values listed were determined from studies conducted by the manufacturer. Within-run precision was evaluated by including Normal and Abnormal controls, in duplicate, in each run of clinical specimens.

Control	Site No.	Assigned Value (HbA _{1c})	Mean Value (HbA _{1c})	No. Runs	No. Assays	Within-Run S.D.	%C.V.	Between-Run S.D.	%C.V.
Normal	1	5.2	4.95	21	42	0.16	3.3	Neg.*	Neg.*
Normal	2	5.2	5.10	22	44	0.11	2.2	0.06	1.2
Normal	3	5.2	5.11	22	44	0.12	2.3	0.06	1.1
Abnormal	1	11.9	11.32	21	42	0.34	3.0	Neg.*	Neg.*
Abnormal	2	11.9	11.86	22	44	0.33	2.8	0.51	4.3
Abnormal	3	11.9	11.81	22	44	0.44	3.7	0.11	0.9

*Negligible

Correlation: The percentage of HbA_{1c} in clinical specimens ranging from 3.8% to 14.0% HbA_{1c} (both venous and capillary) was determined using the DCA 2000 HbA_{1c} System (y) and ion exchange high performance liquid chromatography (HPLC) (x). Results are as follows:

Site No.	Sample Type	No. of Assays	Regression Line	Standard Error of Estimate	Correlation Coefficient
1	venous	50	$y = 0.91x + 0.26$	0.42	0.98
1	capillary	50	$y = 0.94x + 0.00$	0.51	0.98
2	venous	47	$y = 0.89x + 0.42$	0.39	0.98
2	capillary	47	$y = 0.91x + 0.34$	0.50	0.97
3	venous	49	$y = 0.94x + 0.34$	0.42	0.98
3	capillary	50	$y = 0.91x + 0.58$	0.52	0.97

In addition, a correlation study was performed at a university diabetes center using the DCA 2000 HbA_{1c} System (y) and a reference HPLC¹² (x) used during the DCCT:

Site No.	Sample Type	No. of Assays	Regression Line	Standard Error of Estimate	Correlation Coefficient
4	venous	100	$y = 1.02x - 0.00$	0.45	0.98

CLIA WAIVER ACCURACY:

To evaluate the expected performance of the Siemens Healthcare Diagnostics DCA Hemoglobin A_{1c} product used on the DCA 2000 analyzer in a CLIA-waived setting, a lay user field study was performed at three non-laboratory study sites. The 68 participants represented diverse demographics, had no previous laboratory experience, and received no training for the study. Participants were provided with six (6) masked whole blood hemolysates with established target concentrations for HbA_{1c} to be used as patient specimens: 4.36, 6.25, 8.18, 8.88, 9.94, and 11.63% HbA_{1c}. The lay user results were compared to target values traceable to the high pressure liquid chromatography (HPLC) reference method used at the Glycohemoglobin Reference Laboratory at the University of Missouri Medical Center.

A summary of the performance is shown below.

Lay User Results: 408 Lay Users: 68

The overall accuracy and imprecision rates for HbA_{1c} were:

Target Level (% HbA _{1c})	Mean (% HbA _{1c})	Accuracy 95% CI*	SD	Imprecision % CV
4.36	4.35	4.30–4.40	0.24	5.4
6.25	6.14	6.10–6.18	0.18	2.9
8.18	8.10	8.04–8.16	0.23	2.9
8.88	8.97	8.90–9.04	0.28	3.2
9.94	9.96	9.88–10.02	0.30	3.0
11.63	11.71	11.61–11.81	0.39	3.4

*95% Confidence Interval

Statistical analysis (t-statistics) demonstrated that the observed differences among the three study sites were not significant.

Specificity:

Effect of Hemoglobin Variants: The antibody in the DCA HbA_{1c} assay is specific for the first few amino acid residues of the glycated amino-terminus of the β -chain of hemoglobin A. Any glycated hemoglobin molecule having this same structure will be measured in the assay. Most glycated hemoglobin variants are immunoreactive in the DCA HbA_{1c} assay (such as, HbS_{1c}, HbC_{1c}, HbE_{1c}). The point mutations in these molecules occur at the 6 position of the β -chain (HbS and HbC) and at the 26 position of the β -chain (HbE). Thus, the point mutations in these variants do not affect the binding of the antibody used in the DCA HbA_{1c} assay. The DCA reports %HbA_{1c} values that reflect the glycemic control of patients with these hemoglobinopathies.^{13,14}

Effect of Pre-HbA_{1c} (Labile Fraction): The labile fraction (Schiff base attachment of glucose to HbA, or pre-HbA_{1c}) does not affect the assay result because the antibody is specific for the stable ketoamine.¹³

Effect of Carbamylated Hemoglobin: Carbamylated hemoglobin (elevated in patients with uremia) does not affect the assay result because the antibody is specific for the sugar moiety of HbA_{1c}.^{15,16}

AVAILABILITY:

DCA HbA_{1c} Reagent Kit is available as REF 5035C (10's). DCA CONTROL NORMAL Normal and DCA CONTROL ABNORMAL Abnormal Control kit is available as REF 5068A.

GLOSSARY OF ACRONYMS

ADA: American Diabetes Association • CLIA: Clinical Laboratory Improvement Amendments • CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial • IFCC: International Federation of Clinical Chemistry • NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program

BIBLIOGRAPHY:

- DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 329 (1993): 977–986.
- American Diabetes Association. Tests of Glycemia in Diabetes, in Clinical Practice Recommendations 2000. *Diabetes Care* Vol. 23 (January 2000): Suppl.1.
- Craine, J. E. Latex agglutination immunoassays. *American Laboratory* 34 (May/June 1987).
- Mayer, T. K., and Freedman, Z. R. Protein glycosylation in diabetes mellitus: A review of laboratory measurements and of their clinical utility. *Clin. Chem. Acta* 127 (1983): 147–184.
- Baynes, J. W., Bunn, H. F., and Goldstein, D. E., et al. National Diabetes Data Group. Report of the Expert Committee on Glycosylated Hemoglobin. *Diabetes Care* 7 (1984): 602–606.
- Koenig, R. J., Peterson, C. M., and Kilo, C., et al. Hemoglobin A_{1c} as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes* 25 (1976): 230–232.
- Nathan, D. M., Singer, D. E., Hurzthal, K., and Goodson, J. D. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N. Eng. J. Med.* 310 (1984): 341–346.
- Larsen, M. L., Horder, M., and Mogensen, E. F. Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1021–1025.
- Nathan, D. M. Hemoglobin A_{1c} – Infatuation or the real thing? *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1062–1063.
- Knowles, B. J., Haigh, W. B., Michaud, G. C., and Marchesi, V. T. A monoclonal antibody-based immunoassay for hemoglobin A_{1c}. *Diabetes* 35 (1986): Suppl. 94A.
- Goldstein, D. E., Little, R. R., and Wiedmeyer, H. M., et al. Glycated hemoglobin: Methodologies and clinical applications. *Clin. Chem.* 32 (1986): B64–B70.
- Bodor, G. S., Little, R. R., Garrett, N., Brown, W., Goldstein, D. E., and Nahm, M. H. Standardization of glycohemoglobin determinations in the clinical laboratory: Three Years of Experience. *Clin. Chem.* 38 (1992): 2414–2418.
- Weykamp, C. W., Pender, T. J., Muskiet, F. J., and Van der Sil, W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin. Chem.* 39 (1993): 1717–1722.
- Eaton, S. E., Fielden, P., and Haisman, P. Glycated haemoglobin (HbA_{1c}) measurements in subjects with haemoglobin variants, using the DCA 2000. *Ann. Clin. Biochem.* 34 (1997): 205–207.
- Rose, A., Tongate, C., and Valdes, Jr., R. A hemoglobin A_{1c} immunoassay method not affected by carbamylated hemoglobin. *Ann. Clin. Lab. Science* 25 (1995): 13–19.
- Weykamp, C. W., Miedema, K., de Haan, T., and Doelman, C. J. A. Carbamylated Hemoglobin Interference in Glycohemoglobin Assays. *Clin. Chem.* 45 (1999): 438–440.

© 2011 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

DCA is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

Diabinese is a registered trademark of Pfizer, Inc.

Orinase, Tolinase, and Micronase are registered trademarks of Upjohn, Inc.

Dymelor is a registered trademark of E. Lilly and Co., Inc.

Origin: US

Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
Tarrytown, NY 10591-5097 USA

EC REP

Siemens Healthcare Diagnostics Ltd.
Sir William Siemens Sq.
Frimley, Camberley, UK GU16 8QD

シーメンスヘルスケア
ダイアグノスティクス株式会社

東京都品川区東五反田3-20-14

Siemens Healthcare Diagnostics

輸入

www.siemens.com/diagnostics



Per l'analisi quantitativa dell'emoglobina A_{1c} nel sangue con gli analizzatori DCA

USO PREVISTO:

Questo test viene eseguito con un metodo quantitativo adeguato per la misurazione della concentrazione percentuale dell'emoglobina A_{1c} nel sangue. La misurazione della concentrazione dell'emoglobina A_{1c} è consigliata per il monitoraggio delle terapie a lungo termine nei pazienti diabetici.

Il DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) ha dimostrato che un miglior controllo della glicemia consente di ridurre il rischio e la progressione delle complicanze del diabete.¹ Il controllo della glicemia è stato determinato in base alla misurazione dell'emoglobina A_{1c}. L'American Diabetes Association (ADA) consiglia di misurare i livelli di emoglobina A_{1c} dalle due alle quattro volte l'anno, meno frequentemente nei pazienti con valori di controllo stabili.²

Questo test si basa su un metodo di inibizione dell'immunoagglutinazione al lattice.³ Dopo aver caricato la cartuccia reagenti nell'analizzatore DCA™, il risultato viene visualizzato entro 6 minuti.

L'analisi DCA per l'emoglobina A_{1c} viene eseguita nei laboratori di studi medici privati, cliniche ed ospedali.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE:

L'emoglobina A_{1c} viene prodotta dalla glicazione non enzimatica del terminale N della catena β dell'emoglobina A₀.⁴ La concentrazione di emoglobina A_{1c} è proporzionale alla concentrazione di glucosio nel sangue per un periodo di circa due mesi.⁵ Di conseguenza, l'emoglobina A_{1c} viene accettata come indicatore della concentrazione media di glucosio ematico nei due mesi precedenti.^{6,7} Alcuni studi hanno dimostrato che i valori clinici ottenuti dalla misurazione regolare dell'emoglobina A_{1c} consentono di modificare il trattamento del diabete e di migliorare il controllo del metabolismo, come indicato dalla diminuzione dei valori dell'emoglobina A_{1c}.^{8,9}

PRINCIPI CHIMICI DELLA PROCEDURA:

Vengono misurate la concentrazione specifica dell'emoglobina A_{1c} e la concentrazione dell'emoglobina totale, quindi il rapporto viene riportato come percentuale dell'emoglobina A_{1c}.¹⁰

Tutti i reagenti utilizzati per le reazioni sono contenuti nella cartuccia reagenti DCA per l'emoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) (REAGENT CARTRIDGE) (Figura 1).

Cartuccia reagenti DCA per HbA_{1c}

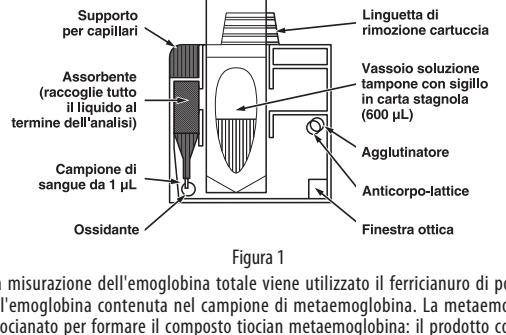


Figura 1

Per la misurazione dell'emoglobina totale viene utilizzato il ferricianuro di potassio per ossidare l'emoglobina contenuta nel campione di mettaemoglobina. La mettaemoglobina si lega al tioclorato per formare il composto tiocian metaemoglobina: il prodotto colorato che viene misurato. Il grado di sviluppo del colore a 531 nm è proporzionale alla concentrazione dell'emoglobina totale nel campione.

Per la misurazione dell'HbA_{1c} specifica viene utilizzato un test di agglutinazione al lattice (Figura 2).

Principio di analisi Inibizione dell'agglutinazione del lattice

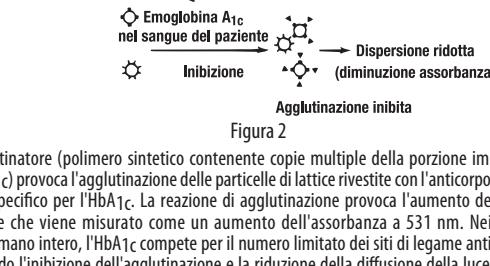


Figura 2

Un agglutinatore (polimero sintetico contenente copie multiple della porzione immunoreattiva dell'HbA_{1c}) provoca l'agglutinazione delle particelle di lattice rivestite con l'anticorpo monoclonale murino specifico per l'HbA_{1c}. La reazione di agglutinazione provoca l'aumento della diffusione della luce che viene misurato come un aumento dell'assorbanza a 531 nm. Nei campioni di sangue umano intero, l'HbA_{1c} compete per il numero limitato dei siti di legame anticorpo-lattice, provocando l'inibizione dell'agglutinazione e la riduzione della diffusione della luce. La riduzione della diffusione viene misurata come una riduzione dell'assorbanza a 531 nm. La concentrazione dell'HbA_{1c} viene dunque quantificata utilizzando una curva di calibrazione dell'assorbanza rispetto alla concentrazione di HbA_{1c}.

La percentuale di HbA_{1c} nel campione viene calcolata nel modo indicato di seguito:

$$\% \text{ HbA}_{1c} = \frac{[\text{HbA}_{1c}]}{[\text{Emoglobina totale}]} \times 100$$

La concentrazione IFCC viene calcolata in mmol/mol HbA_{1c} nel modo seguente:

$$\text{HbA}_{1c} \text{ mmol/mol} = (\text{HbA}_{1c} \text{ mmol}) / (\text{mol di emoglobina totale})$$

Tutte le misurazioni e tutti i calcoli vengono eseguiti automaticamente dall'analizzatore DCA e al termine dell'analisi viene visualizzato sul display il valore relativo all'HbA_{1c}. I valori in questo foglietto sono espressi in % dell'HbA_{1c} dell'NGSP, indicati tra parentesi, come mmol/mol HbA_{1c} IFCC.

CONTENUTO DEL KIT: • 10 cartucce di reagenti • Scheda di calibrazione
• 11 Supporti per capillari • 2 inserti illustrativi

REAGENTI:

Anticorpo-lattice: anticorpo monoclonale murino specifico per l'HbA_{1c} assorbito sulle particelle di lattice. 2,5% p/v di anticorpo-lattice in 10 mM di tamponi di glicina; 16% p/v di agenti non reattivi (10 μL essiccati in ciascuna cartuccia reagenti).

Agglutinatore: 0,005% p/v di polimero (acido aspartico) legato in modo covalente all'aptene dell'HbA_{1c} in 20 mM di tamponi di citrato di sodio contenente 0,1% p/v di albumina sierica (bovina) e 1% p/v di agenti non reattivi (10 μL essiccati in ciascuna cartuccia reagenti).

Soluzione tamponi: 8,1% p/v tioclorato di litio, 0,01% digitonina in 200 mM di tamponi di glicina (0,6 mL in ciascuna cartuccia).

Ossidante: 1,5% p/v di ferricianuro di potassio in acqua con 21% p/v di agenti non reattivi (10 μL essiccati in ciascuna cartuccia).



ATTENZIONE:
• Le cartucce di reagenti DCA per HbA_{1c} sono realizzate per l'uso diagnostico *in vitro* (IVD).

• Durante l'uso degli analizzatori DCA si raccomanda di indossare gli occhiali di protezione, i guanti e il camice da laboratorio.



AVVERTENZA:
• Per evitare possibili lesioni personali, non forzare la rimozione della cartuccia dallo strumento. Consultare la Guida per l'operatore per verificare la tecnica di rimozione appropriata. Se il problema non viene risolto, contattare l'assistenza tecnica.

INDICATORE DI TEMPERATURA:

Quando si riceve il kit, è necessario verificare l'indicatore di temperatura posizionato sulla parte anteriore della scatola. Se l'indicatore è rosso, non utilizzare le cartucce di reagenti. Annotare l'ora e la data di ricezione e fare riferimento alle istruzioni riportate sulla scatola per contattare l'assistenza e richiedere la sostituzione del kit.

CONSERVAZIONE:

Conservare le cartucce di reagenti in frigorifero a una temperatura compresa tra 2 e 8°C (tra 36 e 46°F).

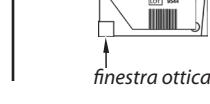
I supporti per capillari possono essere conservati in frigorifero oppure a temperatura ambiente; in questo ultimo caso la temperatura deve essere compresa tra 15 e 30°C (tra 59 e 86°F).

CICLO DI VITA:

È possibile conservare le cartucce di reagenti dopo la data di scadenza (EXP) per un massimo di tre mesi a temperatura ambiente. Annotare sulla scatola la data in cui è stata lasciata a temperatura ambiente.

PROCEDURE RACCOMANDATE PER IL TRATTAMENTO DELLE CARTUCCE DI REAGENTI:

Per aprire il sacchetto di stagnola, strappare il lato lungo verso il basso utilizzando l'angolo pretagliato fino all'apertura completa.



Scartare la cartuccia di reagenti in caso di danneggiamento, linguetta lenta o mancante, agente essiccatore mancante o presenza di particelle dell'agente essiccatore sparse all'interno del sacchetto di stagnola.

Una volta fuori dal frigorifero, lasciar riscaldare la cartuccia reagenti a temperatura ambiente per 10 minuti (all'interno del sacchetto di stagnola aperto) oppure per 5 minuti (se fuori dal sacchetto di stagnola). **Dopo aver aperto il sacchetto di stagnola, la cartuccia reagenti deve essere utilizzata entro 1 ora.**

PROCEDURE RACCOMANDATE PER IL TRATTAMENTO DEI SUPPORTI PER CAPILLARI:

I supporti per capillari non utilizzati possono essere conservati e utilizzati con qualsiasi lotto di cartucce di reagenti. Ciascun supporto per capillari è confezionato separatamente in una confezione blister. Per estrarre il supporto per capillari, rimuovere la pellicola di plastica bianca dalla confezione blister trasparente. **NON PREMERE** il supporto per capillari per estrarlo dalla plastica.



Scartare il supporto per capillari di plastica se uno dei seguenti componenti risulta mancante: (a) capillare di vetro, (b) tampone assorbente, (c) meccanismo di chiusura.

STABILITÀ DELLE CARTUCCE DI REAGENTI:

Non utilizzare le cartucce di reagenti dopo l'ultimo giorno del mese di scadenza.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI:

Il capillare in vetro in dotazione (all'interno del supporto per capillari di plastica) contiene 1 μL di sangue intero. È possibile raccogliere il campione di sangue tramite puntura del dito o prelievo venoso. Gli anticoagulanti approvati sono: EDTA, eparina, fluoruro/ossalato e citrato.

Importante: dopo aver riempito il capillare di vetro con il campione, è necessario iniziare l'analisi entro 5 minuti.

Il sangue intero contenente EDTA, eparina, fluoruro/ossalato e citrato può essere conservato per due settimane a temperature comprese tra -70 e 5°C (tra -94 e 41°F) oppure per una settimana a una temperatura massima di 25°C (77°F).

Non ricongelare i campioni scongelati oppure conservarli in un congelatore a scongelamento automatico. Attendere che i campioni raggiungano la temperatura ambiente. Prima dell'uso, miscelare bene il campione di sangue.

PROCEDURA DELL'ANALISI:

Per le istruzioni dettagliate e illustrate, fare riferimento alla Guida rapida di riferimento e al Manuale dell'operatore.

CALIBRAZIONE:

Strumento: l'analizzatore DCA viene calibrato dal produttore. In seguito, lo strumento esegue automaticamente le autoregolazioni durante la prima accensione e all'esecuzione di ciascuna analisi. Nel caso in cui il sistema non sia in grado di eseguire le adeguate regolazioni interne, viene visualizzato un messaggio di errore.

Ragente: prima di essere rilasciato dalla produzione, ciascun lotto di cartucce di reagenti viene sottoposto ad accurate procedure di analisi e caratterizzazione. I valori dei parametri di calibrazione, basati su un metodo di riferimento DCCT, vengono determinati in modo che i reagenti forniscano prestazioni ottimali. Il metodo del test DCA per l'HbA_{1c} è certificato dal National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) ed è riconducibile ai materiali di riferimento e ai metodi di analisi dell'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). I valori dei parametri di calibrazione vengono codificati sulla scheda di calibrazione in dotazione con ciascun lotto di cartucce di reagenti. Prima dell'uso di ciascun lotto nuovo di cartucce di reagenti, eseguire la scansione della scheda di calibrazione con l'analizzatore.

Prima di analizzare un campione, eseguire la scansione del codice a barre (contenente il numero del lotto e il nome del test) della cartuccia reagenti. Ciò consente di accedere ai valori appropriati dei parametri di calibrazione (curva di calibrazione) per il numero di lotto specifico delle cartucce di reagenti in uso. Se per il numero di lotto specifico delle cartucce di reagenti in uso non è disponibile alcuna curva di calibrazione, lo strumento richiede all'utilizzatore di eseguire la scansione della scheda di calibrazione.

Lo strumento è in grado di memorizzare due calibrazioni per l'analisi DCA dell'HbA_{1c}. Ciascuna delle due calibrazioni si riferisce a un numero di lotto differente.

Quando le cartucce di reagenti vengono conservate e utilizzate in modo adeguato, vengono assicurate prestazioni accettabili fino alla data di scadenza. Per verificare il corretto funzionamento del sistema DCA, eseguire l'analisi dei controlli DCA per l'HbA_{1c} (fare riferimento alla sezione Controllo di qualità).

CONTROLLO DI QUALITÀ:

Per garantire la qualità delle procedure di analisi e dei risultati dei pazienti relativi all'emoglobina A_{1c}, il sistema DCA esegue 48 verifiche dei sistemi ottico, elettronico, meccanico e dei reagenti, durante ciascuna analisi dei campioni. Queste verifiche includono il controllo della calibrazione durante ogni analisi. Se si verifica un errore di analisi o del sistema durante le singole misurazioni, il sistema visualizza automaticamente un messaggio di errore evitando di riportare eventuali risultati errati.

Per il personale di laboratorio può essere vantaggioso stabilire un programma di controllo di qualità basato sulle politiche del proprio laboratorio. Eseguire i campioni per il controllo di qualità nelle seguenti condizioni:

- A intervalli regolari determinati in funzione delle procedure del laboratorio

- Quando si utilizza una nuova fornitura di reagenti

- Quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti

- Quando viene eseguita la scansione di una scheda di calibrazione

- Per istruire nuovi operatori e confermarne l'accettabilità delle prestazioni

- Quando i risultati non corrispondono alle condizioni cliniche o ai sintomi del paziente.

La buona prassi di laboratorio include l'applicazione di un programma efficace di controllo di qualità. Tale prassi può comprendere, ad esempio, le voci seguenti:

- Trattamento e conservazione adeguati dei kit di reagenti

- Procedure accurate di raccolta e trattamento dei campioni

- Formazione del personale addetto all'esecuzione delle analisi

- Riesame su base regolare dei risultati dei campioni e dei controlli

- Revisioni periodiche dei sistemi di qualità

- Registrazione dei dati dei test di controllo di qualità.

Se non è possibile risolvere il problema o determinare la causa per risultati al di fuori dei limiti indicati, contattare il rappresentante autorizzato.

RISULTATI:

Il risultato del test visualizzato non richiede ulteriori calcoli. Vengono riportate le concentrazioni di HbA_{1c} nell'intervallo seguente: da 2,5% a 14,0% dell'HbA_{1c} dell'NGSP (gamma HbA_{1c} da 4 mmol/mol a 130 mmol/mol IFCC).

L'analisi è lineare in tutto l'intervallo.

Risultato preceduto dal simbolo minore di (<):

La visualizzazione del simbolo < sul display indica una concentrazione al di sotto del limite inferiore del test (al di sotto dell'intervallo). Riportare il risultato come inferiore al 2,5% dell'HbA_{1c} dell'NGSP (4 mmol/mol dell'HbA_{1c} dell'IFCC). Questo metodo non consente la ri-esecuzione dell'analisi utilizzando un'aliquota di campione superiore. Risultati dell'HbA_{1c} dell'NGSP inferiori al 2,5% (4 mmol/mol dell'HbA_{1c} dell'IFCC) sono rari e possono indicare che il campione contiene quantità considerevoli di emoglobina fetale (non reagisce nell'immunoassay) oppure che il paziente è affetto da anemia emolitica o policitemia (condizioni che spesso portano a una riduzione significativa del ciclo di vita dei globuli rossi).

Risultato preceduto dal simbolo maggiore di (>):

La visualizzazione del simbolo > sul display indica una concentrazione al di sopra del limite superiore del test (al di sopra dell'intervallo). Riportare il risultato come superiore al 14,0% dell'HbA_{1c} dell'NGSP (130 mmol/mol dell'HbA_{1c} dell'IFCC). Questo metodo non consente la ri-esecuzione del test utilizzando un campione diluito. Per ottenere un valore quantitativo, utilizzare un altro metodo di analisi.

Tutte le analisi di laboratorio sono soggette a errore casuale. Se il risultato dell'analisi è incerto o i segni e i sintomi clinici sono in contrasto con i risultati delle analisi, rianalizzare il campione oppure confermare il risultato utilizzando un altro metodo.

LIMITI DELLA PROCEDURA:

L'analisi DCA per l'HbA_{1c} fornisce risultati accurati e precisi per valori di emoglobina compresi tra 7 e 8 g/dL. La maggior parte dei pazienti presenta concentrazioni di emoglobina all'interno di questo intervallo di valori. Tuttavia, i pazienti affetti da anemia grave possono presentare concentrazioni di emoglobina inferiori a 7 g/dL, mentre i pazienti affetti da policitemia possono presentare concentrazioni di emoglobina superiori a 24 g/dL. Tali pazienti devono essere sottoposti a un test che utilizzi un diverso principio di analisi se le concentrazioni di emoglobina non rientrano nell'intervallo di valori accettabili.

L'emoglobina glicata F non viene misurata dall'analisi DCA per l'HbA_{1c}. In caso di livelli di emoglobina F inferiori al 10%, il sistema DCA indica accuratamente il controllo della glicemia del paziente. Tuttavia, a concentrazioni molto elevate di emoglobina F (> 10%), la quantità di HbA_{1c} è inferiore a quella prevista poiché una grossa parte di emoglobina glicata è presente in forma di emoglobina glicata F. I risultati dell'HbA_{1c} di questi pazienti non danno un'indicazione accurata sul controllo della glicemia, pertanto non devono essere confrontati con i valori normali o anomali prestabiliti.

Condizioni quali l'anemia emolitica, la policitemia, l'omozigosi per HbS e HbC, possono ridurre il ciclo di vita dei globuli rossi generando valori dell'HbA_{1c} inferiori a quelli attesi indipendentemente dal metodo utilizzato e dal controllo della glicemia, quando si utilizzano gli intervalli di riferimento prestabiliti.

La bilirubina, fino a un massimo di 20 mg/dL, non interferisce con questo test.

I trigliceridi, fino a un massimo di

VALORI ATTESI:

L'intervallo normale previsto per % dell'HbA_{1c} utilizzando l'analisi DCA per l'HbA_{1c} è stato determinato analizzando campioni di sangue prelevati da 103 individui apparentemente sani (glicemia a digiuno < 120 mg/dL). L'intervallo dei valori normali non presentava alcuna differenza significativa tra gli individui di sesso maschile e femminile, di provenienza geografica o fasce di età diverse. Il valore medio dell'HbA_{1c} era pari a 5,0% ± 0,35% (1 D.S.). L'intervallo era compreso tra 4,2% e 6,5%. Gli intervalli di confidenza al 95% (media ± 2 D.S.) erano compresi tra il 4,3% e il 5,7%. Questi valori sono simili a quelli riportati in letteratura.⁷

A seconda del metodo di analisi utilizzato, i valori dell'HbA_{1c} sono compresi tra il 3 e il 6% nei pazienti non diabetici, tra il 6 e l'8% nei pazienti diabetici controllati e può essere pari o superiore al 20% nei pazienti diabetici scarsamente controllati.¹¹ Tuttavia, ciascun laboratorio deve determinare i propri intervalli di normalità, adeguati alla popolazione sottoposta all'analisi.

CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI PRESTAZIONE:

I dati di precisione e correlazione sono stati ottenuti in studi condotti dal personale nei singoli studi medici. I calcoli statistici sono stati eseguiti attenendosi alle procedure del CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute).

Precisione: tre ricercatori indipendenti hanno eseguito analisi multiple per l'HbA_{1c} con il DCA 2000 utilizzando due controlli di sangue intero disponibili sul mercato. I valori assegnati elencati sono stati ottenuti da studi condotti dal produttore. La precisione intra-analisi è stata valutata includendo i controlli normali e anomali, in duplice, in ciascuna analisi dei campioni clinici.

Controllo	N. sito	Valore assegnato (HbA _{1c})	Valore medio (HbA _{1c})	N. esecuzioni	Intra-analisi		Tra un'analisi e l'altra	
					N. analisi	D.S.	% C.V.	D.S.
Normale	1	5,2	4,95	21	42	0,16	3,3	Trasc.*
Normale	2	5,2	5,10	22	44	0,11	2,2	0,06
Normale	3	5,2	5,11	22	44	0,12	2,3	0,06
Anomalo	1	11,9	11,32	21	42	0,34	3,0	Trasc.*
Anomalo	2	11,9	11,86	22	44	0,33	2,8	0,51
Anomalo	3	11,9	11,81	22	44	0,44	3,7	0,11

*Trascrabile

Correlazione: è stata determinata la percentuale di HbA_{1c} nei campioni clinici (venosi e capillari) che presentavano valori dell'HbA_{1c} compresi tra il 3,8 e il 14,0% utilizzando il sistema DCA 2000 per l'HbA_{1c} (*y*) e la cromatografia liquida a scambio di ioni (HPLC) (*x*). Di seguito sono riportati i risultati:

N. sito	Tipo di campione	N. di analisi	Linea di regressione	Errore standard di stima	Coefficiente di correlazione
1	venoso	50	$y = 0,91x + 0,26$	0,42	0,98
1	capillare	50	$y = 0,94x + 0,00$	0,51	0,98
2	venoso	47	$y = 0,89x + 0,42$	0,39	0,98
2	capillare	47	$y = 0,91x + 0,34$	0,50	0,97
3	venoso	49	$y = 0,94x + 0,34$	0,42	0,98
3	capillare	50	$y = 0,91x + 0,58$	0,52	0,97

Inoltre, è stato condotto uno studio di correlazione in un centro antidiabetico universitario utilizzando il sistema DCA 2000 per l'HbA_{1c} (*y*) e un'HPLC¹²(*x*) di riferimento, usata durante il DCCT:

N. sito	Tipo di campione	N. di analisi	Linea di regressione	Errore standard di stima	Coefficiente di correlazione
4	venoso	100	$y = 1,02x - 0,00$	0,45	0,98

Specificità:

Effetto delle varianti dell'emoglobina: l'anticorpo utilizzato nell'analisi DCA per l'HbA_{1c} è specifico per i primi ridotti residui di aminoacidi del terminale aminoacidico glicato della catena β dell'emoglobina A. Nel test vengono misurate tutte le molecole di emoglobina glicata che presentano questa stessa struttura. La maggior parte delle varianti dell'emoglobina glicata (ad esempio, HbS1c, HbC1c, HbE1c) sono immunoreattive nell'analisi DCA per l'HbA_{1c}. Le mutazioni puntiformi in queste molecole si verificano nella posizione 6 della catena β (Hb5 e Hb6) e nella posizione 26 della catena β (HbE). Di conseguenza, le mutazioni puntiformi in queste varianti non coinvolgono il legame dell'anticorpo utilizzato nell'analisi DCA per l'HbA_{1c}. L'analisi DCA riporta i valori % dell'HbA_{1c} che riflettono il controllo della glicemia dei pazienti affetti da tali emoglobinopatie.^{13,14}

Effetto della pre-HbA_{1c} (frazione labile): la frazione labile (legame della base di Schiff del glucosio all'HbA oppure pre-HbA_{1c}) non influisce sul risultato dell'analisi poiché l'anticorpo è specifico per la chetamina stabile.¹²

Effetto dell'emoglobina carbamilata: l'emoglobina carbamilata (che risulta elevata nei pazienti affetti da uremia) non influisce sul risultato dell'analisi poiché l'anticorpo è specifico per il segmento molecolare dello zucchero dell'HbA_{1c}.^{15,16}

DISPONIBILITÀ:

Il kit di reagenti DCA per l'HbA_{1c} è disponibile con il numero di riferimento **REF** 5035C (10's). Il kit di controlli livello normale **CONTROL NORMAL** e anomalo **CONTROL ABNORMAL** DCA è disponibile con il numero di riferimento **REF** 5068A.

GLOSSARIO DEGLI ACRONIMI:

ADA: American Diabetes Association • **CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute • **DCCT:** Diabetes Control and Complications Trial • **IFCC:** International Federation of Clinical Chemistry •

NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program

BIBLIOGRAFIA:

1. DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 329 (1993): 977–986.
2. American Diabetes Association. Tests of Glycemia in Diabetes, in Clinical Practice Recommendations 2000. *Diabetes Care* Vol. 23 (January 2000): Suppl.1.
3. Craine, J. E. Latex agglutination immunoassays. *American Laboratory* 34 (May/June 1987).
4. Mayer, T. K., and Freedman, Z. R. Protein glycosylation in diabetes mellitus: A review of laboratory measurements and of their clinical utility. *Clin. Chem. Acta* 127 (1983): 147–184.
5. Baynes, J. W., Bunn, H. F., and Goldstein, D. E., et al. National Diabetes Data Group. Report of the Expert Committee on Glucosylated Hemoglobin. *Diabetes Care* 7 (1984): 602–606.
6. Koenig, R. J., Peterson, C. M., and Kilo, C., et al. Hemoglobin A1c as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes* 25 (1976): 230–232.
7. Nathan, D. M., Singer, D. E., Hurxthal, K., and Goodson, J. D. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N. Eng. J. Med.* 310 (1984): 341–346.
8. Larsen, M. L., Horder, M., and Mogensen, E. F. Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1021–1025.
9. Nathan, D. M. Hemoglobin A1c – Infatuation or the real thing? *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1062–1063.
10. Knowles, B. J., Haigh, W. B., Michaud, G. C., and Marchesi, V. T. A monoclonal antibody-based immunoassay for hemoglobin A1c. *Diabetes* 35 (1986): Suppl. 94A.
11. Goldstein, D. E., Little, R. R., and Wiedmeyer, H. M., et al. Glycated hemoglobin: Methodologies and clinical applications. *Clin. Chem.* 32 (1986): B64–B70.
12. Bodor, G. S., Little, R. R., Garrett, N., Brown, W., Goldstein, D. E., and Nahm, M. H. Standardization of glycohemoglobin determinations in the clinical laboratory: Three Years of Experience. *Clin. Chem.* 38 (1992): 2414–2418.
13. Weykamp, C. W., Pender, T. J., Musket, F. J., and Van der Silk, W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin. Chem.* 39 (1993): 1717–1722.
14. Eaton, S. E., Fielden, P., and Haisman, P. Glycated haemoglobin (HbA1c) measurements in subjects with haemoglobin variants, using the DCA 2000. *Ann. Clin. Biochem.* 34 (1997): 205–207.
15. Rose, A., Tongate, C., and Valdes, Jr., R. A hemoglobin A1c immunoassay method not affected by carbamylated hemoglobin. *Ann. Clin. Lab. Science* 25 (1995): 13–19.
16. Weykamp, C. W., Miedema, K., de Haan, T., and Doelman, C. J. A. Carbamylated Hemoglobin Interference in Glycohemoglobin Assays. *Clin. Chem.* 45 (1999): 438–440.

© 2011 Siemens Healthcare Diagnostics. Tutti i diritti riservati.

DCA è un marchio di Siemens Healthcare Diagnostics.

Diabinese è un marchio registrato di Pfizer, Inc.

Orinase, Tolinase e Micronase sono marchi registrati di Upjohn, Inc.

Dymelor è un marchio registrato di E. Lilly and Co., Inc.

Origin: US

 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
Tarrytown, NY 10591-5097 USA

EC **REP**

Siemens Healthcare Diagnostics Ltd.
Sir William Siemens Sq.
Frimley, Camberley, UK GU16 8QD

Siemens Healthcare
Diagnostics Pty Ltd
885 Mountain Highway
Bayswater Victoria 3153
Australia

シーメンスヘルスケア・
ダイアグノстиクス株式会社
東京都品川区東五反田3-20-14

Siemens Healthcare Diagnostics

輸入

www.siemens.com/diagnostics



Para su uso con analizadores DCA™

Análisis cuantitativo de hemoglobina A1c en sangre

USO PREVISTO:

Este análisis constituye un método cuantitativo práctico para determinar el porcentaje de concentración de hemoglobina A1c en sangre. La medición de la concentración de hemoglobina A1c se recomienda para supervisar el tratamiento a largo plazo de los pacientes con diabetes.

El ensayo clínico sobre el control de la diabetes y sus complicaciones (Diabetes Control and Complications Trial, DCCT) demuestra la importancia del aumento del control glucémico para reducir el riesgo y la progresión de las complicaciones asociadas a la diabetes¹. El control glucémico se determina mediante la medición de la hemoglobina A1c. La American Diabetes Association (ADA) recomienda medir los niveles de hemoglobina A1c de dos a cuatro veces al año y con menos frecuencia en el caso de los pacientes con un control estable².

Este análisis se basa en un método de inhibición de la inmunoaglutinación de partículas de látex³. Una vez cargado el cartucho de test de reactivos en el analizador DCA™, el resultado de la prueba se muestra en seis minutos.

El análisis de hemoglobina A1c DCA se usa en los laboratorios de las consultas médicas, las clínicas y los hospitales.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN:

La hemoglobina A1c se forma por la glucación no enzimática del término N de la cadena β de la hemoglobina A0⁴. El nivel de hemoglobina A1c es proporcional al nivel de glucosa en sangre durante un período de aproximadamente dos meses⁵. Por consiguiente, la hemoglobina A1c se acepta como un indicador de la concentración de glucosa en sangre diaria media durante los dos meses anteriores^{6,7}. Los estudios demuestran que los valores clínicos obtenidos mediante la medición regular de la hemoglobina A1c permiten cambiar el tratamiento de la diabetes y aumentar el control metabólico conforme a la reducción de los valores de hemoglobina A1c^{8,9}.

PRINCIPIOS QUÍMICOS DEL PROCEDIMIENTO:

Se miden la concentración de A1c de forma específica y la concentración de hemoglobina total, y se indica la proporción como un porcentaje de hemoglobina A1c¹⁰.

Los reactivos para obtener ambas reacciones se incluyen en el cartucho de reactivos de hemoglobina A1c (HbA1c) DCA REAGENT CARTRIDGE (figura 1).

Cartucho de reactivo DCA HbA1c

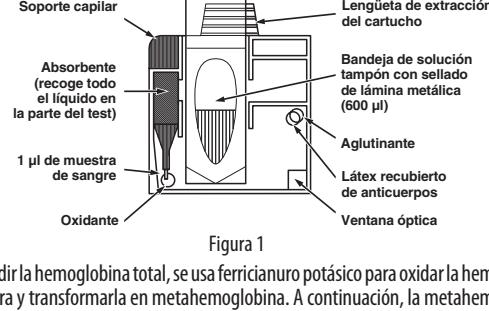


Figura 1

Para medir la hemoglobina total, se usa ferricianuro potásico para oxidar la hemoglobina de la muestra y transformarla en metahemoglobina. A continuación, la metahemoglobina forma un complejo con el tiocianato denominado tiocianometahemoglobina, que es la sustancia coloreada que se mide. El nivel de revelado en color a 531 nm es proporcional a la concentración de hemoglobina total de la muestra.

Para la medición del nivel específico de HbA1c, se usa un método de inhibición de la inmunoaglutinación de partículas de látex (figura 2).

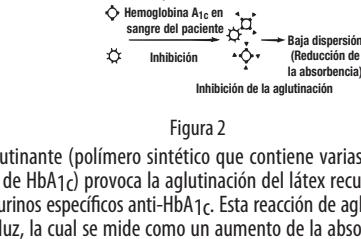
Principio de análisis
Inhibición de la aglutinación de partículas de látex

Figura 2

El uso de un aglutinante (polímero sintético que contiene varias copias de la porción inmunorreactiva de HbA1c) provoca la aglutinación del látex recubierto de anticuerpos monoclonales murinos específicos anti-HbA1c. Esta reacción de aglutinación aumenta la dispersión de la luz, la cual se mide como un aumento de la absorbancia a 531 nm. La HbA1c de las muestras de sangre entera compite por un número limitado de sitios de unión del látex recubierto de anticuerpos, lo que provoca la inhibición de la aglutinación y la reducción de la dispersión de la luz. La dispersión reducida se mide como una reducción de la absorbancia a 531 nm. A continuación, se cuantifica la concentración de HbA1c con una curva de calibración de la absorbencia frente a la concentración de HbA1c.

El porcentaje de HbA1c de la muestra se calcula del modo siguiente:

$$\% \text{ de HbA1c} = \frac{[\text{HbA1c}]}{[\text{Hemoglobina total}]} \times 100$$

La concentración IFCC en mmol/mol HbA1c se calcula de la siguiente manera:
mmol/mol HbA1c = (mmol HbA1c)/(mol de hemoglobina total)

El analizador DCA realiza automáticamente todas las mediciones y cálculos, y la pantalla muestra el porcentaje de HbA1c al final del análisis. Los valores de este prospecto se expresan en unidades NGSP (% de HbA1c) y se muestran entre paréntesis en unidades IFCC (mmol/mol de HbA1c).

CONTENIDO DEL KIT: • 10 cartuchos de reactivos • Tarjeta de calibración
• 11 soportes capilares • 2 prospectos

REACTIVOS:

Látex recubierto de anticuerpos: anticuerpos monoclonales murinos específicos anti-HbA1c adsorvidos en partículas de látex. Látex con anticuerpos al 2,5% (p/v) en 10 mM de tampón de glucocola, ingredientes no reactivos al 16% (p/v) (10 µl secos en cada cartucho de reactivos).

Aglutinante: polímero de ácido poliaspártico al 0,005% (p/v) unido covalentemente al hapteno de HbA1c en 20 mM de un tampón de citrato sódico con albúmina sérica bovina al 0,1% (p/v) e ingredientes no reactivos al 1% (p/v) (10 µl secos en cada cartucho).

Solución támpon: tiocianato de litio al 8,1% (p/v), digitonina al 0,01% en 200 mM de un tampón de glucocola (0,6 ml en cada cartucho).

Oxidante: ferricianuro potásico al 1,5% (p/v) en agua con ingredientes no reactivos al 21% (p/v) (10 µl secos en cada cartucho).



- Los cartuchos de reactivos de HbA1c DCA son para uso diagnóstico *in vitro*

- Se recomienda el uso de gafas de seguridad, guantes y batas de laboratorio para manipular el sistema DCA.



- Para evitar cualquier daño, no intente extraer de forma forzada el cartucho del instrumento. Consulte la Guía del usuario para comprobar el proceso de retirada del mismo. Póngase en contacto con su asistente de servicio técnico si no logra solucionar el problema.

INDICADOR DE TEMPERATURA:

Al recibir este kit, compruebe el indicador de temperatura situado en la parte frontal de la caja de cartón. Si el indicador se muestra en color rojo, no use los cartuchos de reactivos. Anote la hora y la fecha de recepción, y para obtener un kit de repuesto, consulte las instrucciones que aparecen en la caja de cartón.

ALMACENAMIENTO:

Conserve los cartuchos de reactivos refrigerados a entre 2 y 8°C (36 y 46°F).

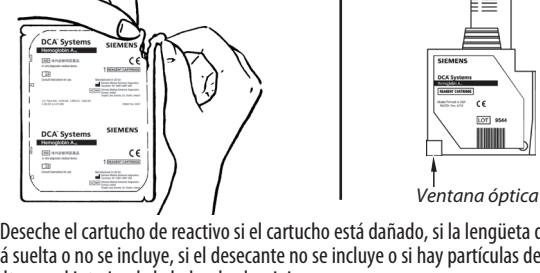
Los soportes capilares se pueden conservar refrigerados o a temperatura ambiente (entre 15 y 30°C/59 y 86°F).

VIDA ÚTIL:

Los cartuchos de reactivos se pueden conservar durante un período máximo de tres meses a temperatura ambiente antes de la fecha de caducidad (EXP). Anote en la caja de cartón la fecha en que se ha puesto el producto a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTOS RECOMENDADOS PARA LA MANIPULACIÓN DE CARTUCHOS DE REACTIVO:

Para abrir la bolsa de aluminio, rásquela por el corte de la esquina (hasta que se abra todo el lateral de la bolsa).



Deseche el cartucho de reactivos si el cartucho está dañado, si la lengüeta de apertura está suelta o no se incluye, si el desecante no se incluye o si hay partículas de desecante sueltas en el interior de la bolsa de aluminio.

Al retirarlo del refrigerador, deje el cartucho de reactivos a temperatura ambiente durante 10 minutos (en la bolsa de aluminio cerrada) o durante 5 minutos (si se extrae de la bolsa de aluminio). Una vez abierta la bolsa de aluminio, el cartucho de reactivos se debe usar en una (1) hora.

PROCEDIMIENTOS RECOMENDADOS PARA LA MANIPULACIÓN DE SOPORTES CAPILARES:

Los soportes capilares sin usar se pueden guardar y usar con cualquier lote de cartuchos de reactivos. Cada soporte capilar se envasa por separado en un blister. Para extraer el soporte capilar, retire la película de plástico blanca del blister de plástico transparente. NO PRESIONE (a) el soporte capilar para extraerlo ni intente retirarlo a través del plástico.



Deseche el soporte capilar de plástico si falta lo siguiente: (a) capilar de vidrio, (b) relleno absorbente o (c) mecanismo de bloqueo.

ESTABILIDAD DE LOS CARTUCHOS DE REACTIVO:

No use los cartuchos de reactivos después del último día del mes de caducidad.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS:

El capilar de vidrio suministrado (dentro del soporte capilar de plástico) contiene 1 µl de sangre completa. La sangre entera se puede obtener de la yema del dedo o mediante venopunción. Los anticoagulantes admitidos son EDTA, heparina, fluoruro/oxalato y citrato.

Importante: Una vez que se ha llenado el capilar de vidrio con la muestra, el análisis se debe iniciar en 5 minutos.

Los anticoagulantes EDTA, heparina, fluoruro/oxalato y citrato para conservar la sangre se pueden almacenar a una temperatura de -70 a 5°C (de -94 a 41°F) durante dos semanas o a un máximo de 25°C (77°F) durante una semana.

No vuelva a congelar las muestras de sangre congeladas previamente ni las almacene en un congelador autodescongelante. Deje que las muestras de sangre alcancen la temperatura ambiente. Mezcle bien las muestras de sangre antes de usarlas.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS: Consulte la guía de referencia rápida y la guía del usuario para obtener instrucciones detalladas y con ilustraciones.

CALIBRACIÓN:

Instrumento: el fabricante calibra el analizador DCA. Por consiguiente, el instrumento se ajusta automáticamente durante el primer encendido y durante cada análisis. En caso de que el sistema no realice los ajustes internos correctamente, se muestra un mensaje de error.

Reactivos: antes de que el fabricante distribuya los cartuchos de reactivos, cada lote de cartuchos de reactivos se somete a un análisis y una caracterización exhaustivos. Los parámetros de calibración basados en un método de referencia del ensayo DCCT se determinan para obtener un rendimiento óptimo de los reactivos. El método de análisis de HbA1c DCA cuenta con la certificación del National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) y es conforme a los materiales de referencia y métodos de análisis del International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Los parámetros de calibración se codifican en la tarjeta de calibración suministrada con cada lote de cartuchos de reactivos. Antes de usar un lote nuevo de cartuchos de reactivos, escanee la tarjeta de calibración en el analizador.

Para poder analizar la muestra, es necesario escanear el código de barras del cartucho de reactivos (que incluye el número de lote y el nombre del análisis). De este modo se tiene acceso a los parámetros de calibración correspondientes (curva de calibración) para el número de lote concreto de los cartuchos de reactivos que se están usando. Si no se incluye ninguna curva de calibración en el instrumento para el número de lote de cartuchos que se está usando, el instrumento solicita al usuario que escaneé la tarjeta de calibración.

El instrumento tiene capacidad para almacenar dos calibraciones para el análisis de HbA1c DCA. Cada una de estas dos calibraciones se corresponde con un número de lote distinto.

Si los cartuchos de reactivos se conservan y usan correctamente, se garantiza un rendimiento aceptable hasta la fecha de caducidad. Para comprobar el funcionamiento correcto del sistema DCA, analice los controles de HbA1c DCA (consulte la sección Control de calidad).

CONTROL DE CALIDAD:

Para garantizar la calidad de los procedimientos de análisis y los resultados de paciente para hemoglobina A1c, el sistema DCA realiza 48 tests ópticos y pruebas electrónicas, mecánicas y de los sistemas de reactivos durante cada análisis de muestras. Estas pruebas incluyen una verificación de la calibración durante cada análisis. Si se produce un error de análisis o del sistema durante una medición concreta, el sistema genera automáticamente un mensaje de error, lo que impide la generación de resultados de paciente erróneos.

El personal de cada laboratorio se puede beneficiar del establecimiento de un plan de garantía de calidad basado en las políticas del centro. Realice tests de control de calidad en los siguientes casos:

- A intervalos regulares según los procedimientos del laboratorio
- Con cada suministro de reactivos nuevo
- Con cada lote de reactivos nuevo
- Cada vez que se escanea una tarjeta de calibración
- Con fines de formación y para confirmar el nivel de rendimiento de los nuevos analistas
- Si los resultados no coinciden con el estado clínico o los síntomas del paciente.

Las prácticas correctas de laboratorio incluyen un proceso de control de calidad diseñado e implementado correctamente. Estas prácticas pueden implicar, por ejemplo:

- Almacenamiento y manipulación correctos de los kits de reactivos
- Procedimientos de obtención y manipulación de muestras minuciosos
- Formación del personal que realiza los análisis
- Revisión sistemática de los resultados de las muestras y los controles
- Revisiones periódicas del sistema de calidad
- Mantenimiento de registros de los análisis de control de calidad.

Si no se puede corregir el problema o no se puede determinar el motivo de un resultado fuera de los límites, póngase en contacto con el representante autorizado más próximo.

RESULTADOS:

Los resultados mostrados no requieren ningún cálculo adicional. Se generan concentraciones de HbA1c comprendidas en el siguiente intervalo: del 2,5% al 14,0% de HbA1c NGSP (intervalo de HbA1c de 4 mmol/mol a 130 mmol/mol de IFCC).

El test es lineal en este intervalo.

Resultado precedido por un signo "menor que" (<):

Un signo "menor que" en la pantalla indica que la concentración se encuentra por debajo del límite inferior del test (por debajo del intervalo). Indique el resultado como inferior al 2,5% de HbA1c NGSP (4 mmol/mol HbA1c IFCC). Este método no ofrece la posibilidad de reanálisis con una parte alícuota mayor de la muestra. Los resultados inferiores al 2,5% de HbA1c NGSP (4 mmol/mol HbA1c IFCC) son poco frecuentes y pueden indicar que la muestra contiene una cantidad considerable de hemoglobina fetal (sin reacción en el inmunoanálisis) o que el paciente puede padecer anemia hemolítica o eritrocitemia (enfermedades que suelen tener como resultado una reducción significativa de la duración de los eritrocitos).

Resultado precedido por un signo "mayor que" (>):

Un signo "mayor que" en la pantalla indica que la concentración se encuentra por encima del límite superior del test (por encima del intervalo). Indique el resultado como superior al 14,0% de HbA_{1c} NGSP (130 mmol/mol HbA_{1c} IFCC). Este método no ofrece la posibilidad de reanálisis con una muestra diluida. Para obtener un valor más cuantitativo, use otro método de análisis.

Todos los análisis clínicos están sujetos a errores aleatorios. Si el resultado del análisis es dudoso o si los signos clínicos parecen no corresponderse con los resultados del análisis, vuelva a analizar la muestra o confirme el resultado con otro método.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO:

El análisis de HbA_{1c} DCA proporciona unos resultados exactos y precisos en un intervalo de hemoglobina total de 7 a 24 g/dl. La mayoría de los pacientes presentan unas concentraciones de hemoglobina que se corresponden con estos valores. No obstante, los pacientes con anemias graves pueden tener concentraciones de hemoglobina inferiores a 7 g/dl y los pacientes con eritrocitemia pueden tener concentraciones superiores a 24 g/dl. Los pacientes en cuyo caso se ha confirmado que padecen estas enfermedades se deben someter a una prueba con un principio de análisis distinto si las concentraciones de hemoglobina no se encuentran dentro del intervalo aceptable.

La glucohemoglobina F no se mide mediante el análisis de HbA_{1c} DCA. Con unos niveles de hemoglobina F inferiores al 10%, el sistema DCA indica de forma exacta el control glucémico del paciente. Sin embargo, en el caso de niveles muy altos de hemoglobina F (> 10%), la cantidad de HbA_{1c} es inferior a la esperada debido a que una proporción superior de la glucohemoglobina se encuentra en forma de glucohemoglobina F. Los resultados de HbA_{1c} para estos pacientes no indican de forma exacta el control glucémico del paciente y no se pueden comparar con los valores normales o anómalos publicados.

Algunas enfermedades como la anemia hemolítica, la eritrocitemia o la homocigosis (HbS y HbC) pueden conllevar una reducción de la duración de los eritrocitos, lo que implica que los resultados de HbA_{1c} sean inferiores a los esperados con independencia del método empleado y que no estén relacionados con el control glucémico si se usan intervalos de referencia publicados.

La bilirrubina, hasta un nivel máximo de 20 mg/dl, no interfiere con este análisis.

Los triglicéridos, hasta un nivel máximo de 1347 mg/dl en sangre entera recién extraída, no interfieren con este análisis. Las muestras de sangre altamente lipídicas conservadas durante largos períodos de tiempo o congeladas no se pueden analizar con este método.

Los anticuerpos reumatoideos, hasta una valoración máxima de 1:5120, no interfieren con este análisis.

Los niveles de suero esperados para los siguientes medicamentos frecuentemente prescritos a pacientes con diabetes no interfieren con este análisis: Diabinese, Orinase, Tolinase, Micronase, Dymelor y glipicida.

VALORES ESPERADOS:

El intervalo normal esperado para el % de HbA_{1c} con el test de HbA_{1c} DCA se determinó mediante el análisis de muestras de sangre de 103 sujetos aparentemente sanos (niveles de glucosa en sangre en ayunas < 120 mg/dl). No se observaron diferencias significativas en el intervalo normal entre los hombres y las mujeres, por ubicación geográfica o por los grupos de edad evaluados. El valor de HbA_{1c} medio fue de 5,0% ± 0,35% (1 de desviación estándar). El intervalo fue del 4,2% al 6,5%. Los límites de confianza del 95% (media ± 2 de desviación estándar) fueron del 4,3% al 5,7%. Estos valores son similares a los que aparecen en las publicaciones⁷.

Según el método de análisis usado, el nivel de HbA_{1c} es de aproximadamente entre el 3 y 6% en los pacientes no diabéticos, entre el 6 y 8% en los pacientes diabéticos controlados y puede ser del 20% o superior en el caso de los pacientes diabéticos no controlados correctamente¹¹. No obstante, cada laboratorio debe determinar los intervalos normales conforme a la población evaluada.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ESPECÍFICAS:

Los datos de precisión y correlación son el resultado de los estudios realizados por el personal de los distintos centros médicos. Los cálculos estadísticos se realizaron según los procedimientos del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

Precisión: tres investigadores independientes realizaron varios análisis de HbA_{1c} DCA 2000 de dos controles de sangre entera comercializados diferentes. Los valores asignados se determinaron a partir de los estudios realizados por el fabricante. La precisión intraserie se evaluó mediante la inclusión de controles normales y anormales por duplicado en cada serie de muestras clínicas.

Control	N. centro	Valor asignado (HbA _{1c})	Valor medio (HbA _{1c})	Intraserie				Interserie	
				Nº de series	Nº de análisis	D.E.	% de C.V.	D.E.	% de C.V.
Normal	1	5,2	4,95	21	42	0,16	3,3	Ins.*	Ins.*
Normal	2	5,2	5,10	22	44	0,11	2,2	0,06	1,2
Normal	3	5,2	5,11	22	44	0,12	2,3	0,06	1,1
Anormal	1	11,9	11,32	21	42	0,34	3,0	Ins.*	Ins.*
Anormal	2	11,9	11,86	22	44	0,33	2,8	0,51	4,3
Anormal	3	11,9	11,81	22	44	0,44	3,7	0,11	0,9

*Insignificante

Correlación: el porcentaje de HbA_{1c} de las muestras clínicas en un intervalo comprendido entre el 3,8 y el 14,0% de HbA_{1c} (venosa y capilar) se determinó mediante el sistema HbA_{1c} DCA 2000 (y) y una cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) de intercambio iónico (x). Los resultados son los siguientes:

N. centro	Tipo de muestra	Nº de análisis	Línea de regresión	Error de cálculo estándar	Coeficiente de correlación
1	venosa	50	y = 0,91x + 0,26	0,42	0,98
1	capilar	50	y = 0,94x + 0,00	0,51	0,98
2	venosa	47	y = 0,89x + 0,42	0,39	0,98
2	capilar	47	y = 0,91x + 0,34	0,50	0,97
3	venosa	49	y = 0,94x + 0,34	0,42	0,98
3	capilar	50	y = 0,91x + 0,58	0,52	0,97

Además, se realizó un estudio de correlación en un centro universitario de investigación sobre la diabetes mediante el sistema HbA_{1c} DCA 2000 (y) y se usó un método HPLC¹² de referencia (x) para el ensayo clínico DCCT:

N. centro	Tipo de muestra	Nº de análisis	Línea de regresión	Error de cálculo estándar	Coeficiente de correlación
4	venosa	100	y = 1,02x - 0,00	0,45	0,98

Especificidad:

Efecto de las variantes de hemoglobina: los anticuerpos del análisis de HbA_{1c} DCA son específicos para los primeros residuos de aminoácidos del término glucoamino de la cadena β de hemoglobina A. Todas las moléculas de glucohemoglobina con esta estructura se miden en el análisis. La mayoría de las variantes de glucohemoglobina son inmunorreactivas en el análisis de HbA_{1c} DCA (por ejemplo, HbS1c, HbC1c y HbE1c). Las mutaciones puntuales de estas moléculas se producen en la posición 6 de la cadena β (HbS y HbC) y en la posición 26 de la cadena β (HbE). Por consiguiente, las mutaciones puntuales de estas variantes no afectan a la unión de los anticuerpos usados en el análisis de HbA_{1c} DCA. El análisis DCA genera valores de % de HbA_{1c} que reflejan el control glucémico de los pacientes que padecen estas hemoglobinopatías^{13,14}.

Efecto de pre-HbA_{1c} (fracción lábil): la fracción lábil (unión de la base de Schiff de la glucosa a HbA o pre-HbA_{1c}) no afecta al resultado del análisis debido a que los anticuerpos son específicos para la cetoamina estable¹³.

Efecto de la hemoglobina carbamilada: a hemoglobina carbamilada (elevada en pacientes con hiperuremia) no afecta al resultado del análisis debido a que los anticuerpos son específicos para la fracción de azúcar de HbA_{1c}^{15,16}.

DISPONIBILIDAD:

El kit de reactivo de HbA_{1c} DCA está disponible como REF 5035C (10). El kit de control normal CONTROL NORMAL y anómalo CONTROL ABNORMAL DCA está disponible como REF 5068A.

GLOSARIO DE ACRÓNIOS

ADA: American Diabetes Association (Asociación Americana de Diabetes) • **CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de normas clínicas y de laboratorio) • **DCCT:** Diabetes Control and Complications Trial (ensayo clínico sobre el control de la diabetes y sus complicaciones) • **IFCC:** International Federation of Clinical Chemistry (Federación Internacional de Química Clínica) • **NGSP:** National Glycohemoglobin Standardization Program (Programa nacional para la normalización de la glucohemoglobina)

BIBLIOGRAFÍA:

- DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 329 (1993): 977–986.
- American Diabetes Association. Tests of Glycemia in Diabetes, in Clinical Practice Recommendations 2000. *Diabetes Care* Vol. 23 (January 2000): Suppl.1.
- Craine, J. E. Latex agglutination immunoassays. *American Laboratory* 34 (May/June 1987).
- Mayer, T. K., and Freedman, Z. R. Protein glycosylation in diabetes mellitus: A review of laboratory measurements and of their clinical utility. *Clin. Chem. Acta.* 127 (1983): 147–184.
- Baynes, J. W., Bunn, H. F., and Goldstein, D. E., et al. National Diabetes Data Group. Report of the Expert Committee on Glucosylated Hemoglobin. *Diabetes Care* 7 (1984): 602–606.
- Koenig, R. J., Peterson, C. M., and Kilo, C., et al. Hemoglobin A1c as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes* 25 (1976): 230–232.
- Nathan, D. M., Singer, D. E., Hurxthal, K., and Goodson, J. D. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N. Eng. J. Med.* 310 (1984): 341–346.
- Larsen, M. L., Horder, M., and Mogensen, E. F. Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1021–1025.
- Nathan, D. M. Hemoglobin A1c – Infatuation or the real thing? *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1062–1063.
- Knowles, B. J., Haigh, W. B., Michaud, G. C., and Marchesi, V. T. A monoclonal antibody-based immunoassay for hemoglobin A1c. *Diabetes* 35 (1986): Suppl. 94A.
- Goldstein, D. E., Little, R. R., and Wiedmeyer, H. M., et al. Glycated hemoglobin: Methodologies and clinical applications. *Clin. Chem.* 32 (1986): B64–B70.
- Bodor, G. S., Little, R. R., Garrett, N., Brown, W., Goldstein, D. E., and Nahm, M. H. Standardization of glycohemoglobin determinations in the clinical laboratory: Three Years of Experience. *Clin. Chem.* 38 (1992): 2414–2418.
- Weykamp, C. W., Pender, T. J., Musket, F. J., and Van der Silk, W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin. Chem.* 39 (1993): 1717–1722.
- Eaton, S. E., Fielden, P., and Haisman, P. Glycated haemoglobin (HbA1c) measurements in subjects with haemoglobin variants, using the DCA 2000. *Ann. Clin. Biochem.* 34 (1997): 205–207.
- Rose, A., Tongate, C., and Valdes, Jr., R. A hemoglobin A1c immunoassay method not affected by carbamylated hemoglobin. *Ann. Clin. Lab. Science* 25 (1995): 13–19.
- Weykamp, C. W., Miedema, K., de Haan, T., and Doelman, C. J. A. Carbamylated Hemoglobin Interference in Glycohemoglobin Assays. *Clin. Chem.* 45 (1999): 438–440.

© 2011 Siemens Healthcare Diagnostics. Reservados todos los derechos.

DCA es una marca comercial de Siemens Healthcare Diagnostics.

Diabinese es una marca registrada de Pfizer, Inc.

Orinase, Tolinase y Micronase son marcas registradas de Upjohn, Inc.

Dymelor es una marca registrada de E. Lilly and Co., Inc.

Origin: US

 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
Tarrytown, NY 10591-5097 USA

EC **REP**

Siemens Healthcare Diagnostics Ltd.
Sir William Siemens Sq.
Frimley, Camberley, UK GU16 8QD

Siemens Healthcare
Diagnostics Pty Ltd
885 Mountain Highway
Bayswater Victoria 3153
Australia

シーメンスヘルスケア・
ダイアグノстиクス株式会社
東京都品川区東五反田3-20-14
Siemens Healthcare Diagnostics

輸入

www.siemens.com/diagnostics



Kit de reagente para hemoglobina A1c

Para utilizar com analisadores DCA™

Um ensaio quantitativo para hemoglobina A1c no sangue

UTILIZAÇÃO PREVISTA:

Este ensaio proporciona um método quantitativo prático para medir a percentagem de concentração de hemoglobina A1c no sangue. A medição da concentração de hemoglobina A1c é recomendada para monitorizar os tratamentos a longo prazo de pessoas com diabetes.

O Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) apresentou a importância do controlo glicémico melhorado na redução do risco e da progressão das complicações da diabetes¹. O controlo glicémico foi determinado através da medição de hemoglobina A1c. A American Diabetes Association (ADA) recomenda a medição dos níveis de hemoglobina A1c entre duas a quatro vezes ao ano e menos frequentemente em doentes com controlo estável².

Este ensaio baseia-se numa metodologia de inibição da aglutinação imunológica do latex. Depois de colocar o cartucho de teste de reagente no analisador DCA™, o resultado do teste é apresentado passados seis minutos.

O ensaio de hemoglobina A1c DCA destina-se a ser utilizado em laboratórios de, por exemplo, consultórios médicos, clínicas e hospitais.

RESUMO E EXPLICAÇÃO:

A hemoglobina A1c é formada através da glicação não-enzimática do N-terminal da cadeia β da hemoglobina A0³. O nível de hemoglobina A1c é proporcional ao nível de glucose no sangue durante um período de aproximadamente dois meses³. Como tal, a hemoglobina A1c é aceite como um indicador da concentração média de glucose no sangue diária nos dois meses anteriores^{4,5}. Os estudos têm demonstrado que os valores clínicos obtidos através da medição regular da hemoglobina A1c conduzem a alterações no tratamento da diabetes e no melhoramento do controlo metabólico, conforme indicado pela descida dos valores de hemoglobina A1c^{3,9}.

PRINCIPIOS QUÍMICOS DO PROCEDIMENTO:

Tanto a concentração específica de hemoglobina A1c como a concentração total de hemoglobina são medidas e a relação é indicada como concentração de hemoglobina A1c¹⁰.

Todos os reagentes para executar as duas reacções estão incluídos no cartucho de reagente REAGENT CARTRIDGE (HbA1c) para hemoglobina A1c DCA (Figura 1).

Cartucho de reagente para HbA1c DCA

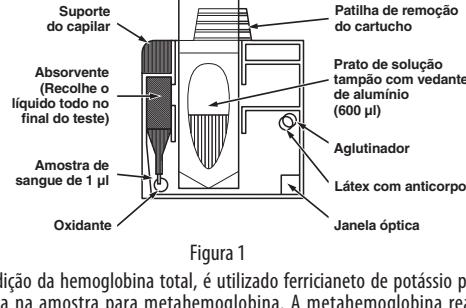


Figura 1

Para a medição da hemoglobina total, é utilizado ferricianeto de potássio para oxidar a hemoglobina na amostra para metahemoglobina. A metahemoglobina reage então com tiocianato para formar tiocianometahemoglobina, a espécie colorida que é medida. A extensão de desenvolvimento da cor a 531 nm é proporcional à concentração da hemoglobina total na amostra.

Para medir a HbA1c específica, é utilizada uma inibição da prova de aglutinação do latex (Figura 2).

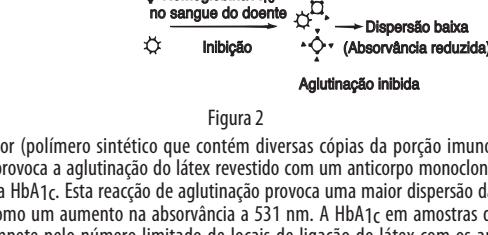
Princípio do ensaio
Inibição de aglutinação de latex

Figura 2

O aglutinador (polímero sintético que contém diversas cópias da porção imunoreactiva da HbA1c) provoca a aglutinação do latex revestido com um anticorpo monoclonal de rato específico da HbA1c. Esta reacção de aglutinação provoca uma maior dispersão da luz, que é medida como um aumento na absorbância a 531 nm. A HbA1c em amostras de sangue integral compete pelo número limitado de locais de ligação do latex com os anticorpos, provocando uma inibição da aglutinação e uma menor dispersão da luz. A dispersão diminuída é medida como uma diminuição da absorbância a 531 nm. A concentração de HbA1c é então quantificada através de uma curva de calibração de absorbância em comparação com a concentração de HbA1c.

A percentagem de HbA1c na amostra é então calculada da seguinte forma:

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{[\text{HbA1c}]}{[\text{Hemoglobina total}]} \times 100$$

A concentração da IFCC em mmol/mol para HbA1c é calculada da seguinte forma:

$$\text{HbA1c mmol/mol} = (\text{mmol de HbA1c}) / (\text{mol de hemoglobina total})$$

Todos os cálculos e medições são executados automaticamente pelo analisador DCA e o ecrã apresenta a HbA1c no final do ensaio. Os valores deste folheto são indicados em % HbA1c NGSP e, quando indicados entre parêntesis, em mmol/mol HbA1c IFCC.

CONTEÚDO DO KIT:

- 10 cartuchos de reagente
- 11 suportes de capilar
- Cartão de calibração
- 2 folhetos do produto

REAGENTES:

Látex com anticorpo: anticorpo monoclonal de rato específico da HbA1c adsorvido em partículas de latex. Látex com anticorpo a 2,5% p/v em tampão de glicina de 10 mM; ingredientes não reactivos a 16% p/v (10 µl a seco em cada cartucho de reagente).

Aglutinador: polímero poli(ácido aspártico) a 0,005% p/v ligado covalentemente a hapteno de HbA1c em tampão de citrato de sódio de 20 mM, contendo albumina sérica bovina a 0,1% p/v e ingredientes não reactivos a 1% p/v (10 µl a seco em cada cartucho).

Solução tampão: tiocianato de lítio a 8,1% p/v, 0,01% de digitonina em tampão de glicina de 200 mM (0,6 ml em cada cartucho).

Oxidante: ferricianeto de potássio em água a 1,5% p/v com ingredientes não reactivos a 21% p/v (10 µl a seco em cada cartucho).

PRECAUÇÃO:

- Os cartuchos de reagente para HbA1c DCA destinam-se a utilização no diagnóstico **[IVD] in vitro**.
- Recomenda-se a utilização de óculos de protecção, luvas e bata quando utilizar o sistema DCA.

ADVERTÊNCIA:

- Para evitar danos físicos, não force a remoção dos cartuchos do equipamento. Consulte o guia do operador para verificar qual a técnica de remoção adequada. Contacte o seu fornecedor de assistência técnica se não conseguir solucionar o problema.

INDICADOR DE TEMPERATURA:

Após receber este kit, verifique o indicador de temperatura à frente da embalagem. Se o indicador ficou a vermelho, não utilize os cartuchos de reagente. Anote a data e a hora de recepção e consulte as instruções na embalagem para saber como adquirir um kit de substituição.

ARMAZENAMENTO:

2°C - 8°C Armazene os cartuchos de reagente refrigerados entre 2 e 8°C (36 e 46°F).

15°C - 30°C Os suportes do capilar podem ser armazenados refrigerados ou à temperatura ambiente (15 a 30°C/59 a 86°F).

PRAZO DE VALIDADE:

Os cartuchos de reagente podem ser guardados até três meses à temperatura ambiente, em qualquer altura, até à data de validade **EXP**. Registe na embalagem a data em que foi colocada à temperatura ambiente.

Para utilizar com analisadores DCA™

Um ensaio quantitativo para hemoglobina A1c no sangue

PROCEDIMENTOS RECOMENDADOS PARA MANUSEAMENTO DE CARTUCHOS DE REAGENTE:

Para abrir a bolsa de alumínio, puxe pelo encaixe do canto (até todo o lado comprido da bolsa estar aberto).

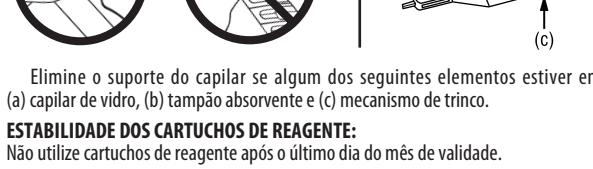


Elimine o cartucho de reagente se o cartucho estiver danificado, a patilha de abertura estiver solta ou em falta, não houver dessecante ou se existirem partículas soltas de dessecante dentro da bolsa de alumínio.

Após retirar do armazenamento refrigerado, deixe o cartucho de reagente aquecer à temperatura ambiente durante 10 minutos (na bolsa de alumínio por abrir) ou 5 minutos (se tiver sido retirado da bolsa de alumínio). **Depois de abrir a bolsa de alumínio, o cartucho de reagente tem que ser utilizado no espaço de (1) hora.**

PROCEDIMENTOS RECOMENDADOS PARA MANUSEAMENTO DE SUPORTES DE CAPILARES:

Os suportes de capilares não utilizados podem ser guardados e utilizados com qualquer lote de cartuchos de reagente. Cada suporte de capilar é embalado separadamente numa embalagem almofadada. Para retirar o suporte de capilar, retire a película de plástico branca da parte de plástico transparente. **NÃO EMPURRE** (a) o suporte de capilar para fora, nem contra o plástico.



Elimine o suporte do capilar se algum dos seguintes elementos estiver em falta: (a) capilar de vidro, (b) tampão absorvente e (c) mecanismo de trinco.

ESTABILIDADE DOS CARTUCHOS DE REAGENTE:

Não utilize cartuchos de reagente após o último dia do mês de validade.

RECOLHA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS:

O capilar de vidro fornecido (no suporte de plástico do capilar) suporta 1 µl de sangue total. A amostra de sangue pode ser obtida por picada do dedo ou punção venosa. Os anticoagulantes aceitáveis são EDTA, heparina, fluoreto/oxalato e citrato.

Importante: Depois de encher o capilar de vidro com a amostra, a análise tem que começar no espaço de 5 minutos.

O sangue total preservado de EDTA, heparina, fluoreto/oxalato e citrato pode ser armazenado entre -70 e 5°C (-94 a 41°F) durante duas semanas, ou até 25°C (77°F) durante uma semana.

Não volte a congelar amostras de sangue previamente congeladas, nem as guarde num congelador com sistema de auto-descongelação. Deixe a amostra de sangue atingir a temperatura ambiente. Misture bem a amostra de sangue antes de a utilizar.

PROCEDIMENTO DE TESTE:

Consulte o Guia de Referência Rápida e o Guia do Operador para obter instruções detalhadas e ilustradas.

CALIBRAÇÃO:

Equipamento: O analisador DCA é calibrado pelo fabricante. Posteriormente, o equipamento ajusta-se automaticamente durante a primeira ligação e durante cada ensaio. Caso não seja possível ao sistema efectuar os ajustes internos adequados, é apresentada uma mensagem de erro.

Reagente: Antes de os cartuchos de reagente serem lançados pelo fabricante, cada lote de cartuchos de reagente é sujeito a uma análise e caracterização minuciosas. Os valores dos parâmetros de calibração baseados num método de referência do DCCT são determinados para proporcionar um desempenho ideal do reagente. O método de teste DCA HbA1c está certificado pelo National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP), sendo rastreável pelos materiais de referência e métodos de teste da International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Os valores para os parâmetros de calibração estão codificados no cartão de calibração fornecido com cada lote de cartuchos de reagente. Antes de utilizar cada lote novo de cartuchos de reagente, faça uma leitura do cartão de calibração no analisador.

Antes de poder analisar a amostra, é efectuada uma leitura do código de barras (que contém o número de lote e o nome do teste) do cartucho de reagente. Desta modo, é accedido aos valores adequados dos parâmetros de calibração (curva de calibração) para o número de lote de cartuchos de reagente particular em utilização. Se não houver nenhuma curva de calibração no equipamento para o número de lote de cartuchos particular em utilização, o equipamento solicita ao utilizador que faça a leitura do cartão de calibração.

O equipamento pode guardar duas calibrações para o ensaio para HbA1c DCA. Cada uma das duas calibrações destina-se a um número de lote diferente.

Quando os cartuchos de reagente são armazenados e utilizados adequadamente, é garantido um desempenho aceitável até à data de validade. Para verificar o funcionamento correcto do sistema DCA, analise os controlos para HbA1c DCA (consulte a secção Controlo de qualidade).

CONTROLO DE QUALIDADE:

Para garantir a qualidade tanto dos procedimentos de teste como dos resultados de doentes para hemoglobina A1c, o sistema DCA efectua 48 verificações aos sistemas óptico, electrónico, mecânico e de reagente durante a progressão de cada ensaio de amostra. Estas verificações incluem a verificação da calibração durante cada teste. Se ocorrer um erro de ensaio ou de sistema durante qualquer medição individual, o sistema apresenta automaticamente uma mensagem de erro, evitando assim a comunicação de resultados de doentes errados.

O estabelecimento de um plano de garantia de qualidade, com base nas políticas da respectiva instituição, pode trazer vantagens para o pessoal de cada laboratório. Procresse amostras de controlo de qualidade nas seguintes situações:

- Em intervalos regulares determinados pelos procedimentos do laboratório
- Sempre que utilizar uma nova remessa de reagentes
- Sempre que utilizar um novo lote de reagentes
- Sempre que for feita a leitura de um cartão de calibração
- Para dar formação e confirmar a aceitabilidade do desempenho de novos analistas
- Quando os resultados não corresponderem ao estado clínico ou sintomas do doente.

As boas práticas de laboratório incluem um processo de controlo de qualidade bem concebido e implementado. Estas práticas, por exemplo, podem envolver:

- Armazenamento e manuseamento adequado dos kits de reagente
- Procedimentos de recolha e tratamento de amostras cuidadosos
- Formação de analistas
- Revisão de rotina de resultados de amostras e de controlo
- Revisões periódicas do sistema de qualidade
- Manutenção de registos de testes de controlo de qualidade.

Se não for possível corrigir o problema ou se não for possível determinar a razão para um resultado fora dos limites, contacte o representante autorizado mais próximo.

RESULTADOS:

O resultado de teste apresentado não requer nenhum cálculo adicional. São comunicadas concentrações de HbA1c no intervalo seguinte: entre 2,5% e 14,0% de HbA1c NGSP (intervalo de HbA1c entre 4 mmol/mol e 130 mmol/mol IFCC).

O teste é linear em todo o intervalo.

Resultado precedido por um sinal de menor que (<):

No ecrã, um sinal de menor que indica uma concentração menor que o limite inferior do teste (abaixo do intervalo). Registe o resultado como sendo inferior a 2,5% de HbA1c NGSP (4 mmol/mol HbA1c IFCC). Este método não proporciona novo ensaio com uma alíquota de amostra maior. Os resultados inferiores a 2,5% de HbA1c NGSP (4 mmol/mol HbA1c IFCC) são raros e podem indicar que a amostra contém quantidades substanciais de hemoglobina fetal (não reage em imunoensaios); ou que o doente pode sofrer de anemia hemolítica ou policitemia (doenças que resultam frequentemente numa diminuição significativa do período de vida dos eritrócitos).

Resultado precedido por um sinal de maior que (>):

No ecrã, um sinal de maior que indica uma concentração maior que o limite superior do teste (acima do intervalo). Registe o resultado como sendo superior a 14,0% de HbA1c NGSP (130 mmol/mol HbA1c IFCC). Este método não proporciona novo ensaio com uma amostra diluída. Para obter um valor de teste mais quantitativo, utilize outro método de teste.

Todos os testes de laboratório estão sujeitos a erros aleatórios. Se o resultado do teste for questionável ou se os sinais e sintomas clínicos parecerem inconsistentes com os resultados do teste, efectue de novo a análise da amostra ou confirme o resultado com outro método.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO:

O ensaio de HbA_{1c} DCA proporciona resultados rigorosos e precisos num intervalo de hemoglobina total entre 7 e 24 g/dl. A maioria dos doentes apresentará concentrações de hemoglobina entre estes valores. Contudo, doentes com anemias graves poderão ter concentrações de hemoglobina inferiores a 7 g/dl e doentes com policitemia poderão ter concentrações superiores a 24 g/dl. Os doentes com estas doenças devem ser analisados através de um teste que utilize um princípio de ensaio diferente, caso as suas concentrações de hemoglobina se encontrem fora do intervalo aceitável.

A hemoglobina F glicada não é medida pelo ensaio de HbA_{1c} DCA. Em níveis de hemoglobina F inferiores a 10%, o sistema DCA indica de forma rigorosa o controlo glicémico do doente. Contudo, em níveis muito elevados de hemoglobina F (> 10%), a quantidade de HbA_{1c} é menor do que previsto, dado que uma proporção maior de hemoglobina glicada se apresenta sob a forma de hemoglobina F glicada. Os resultados de HbA_{1c} destes doentes não indicam de forma rigorosa o seu controlo glicémico e não devem ser comparados a valores normais ou patológicos publicados.

Doenças como anemia hemolítica, policitemia, HbS homozigótico e HbC podem resultar num período de vida reduzido dos eritrócitos, o que pode originar resultados de HbA_{1c} inferiores aos previstos, independentemente do método utilizado, e não podem ser relacionados com o controlo glicémico, na utilização de intervalos de referência publicados.

A bilirrubina, até um nível de 20 mg/dl, não interfere com este ensaio.

Os triglicerídeos, até 1347 mg/dl em sangue total fresco, não interferem com este ensaio. Amostras de sangue altamente lipémicas armazenadas durante longos períodos de tempo ou congeladas não devem ser analisadas através deste método.

O factor reumatóide, até um grau de 1:5120, não interfere com este ensaio.

Níveis de soro previstos dos seguintes medicamentos de prescrição comum a pessoas com diabetes não interferem com este ensaio: Diabinese, Orinase, Tolinase, Micronase, Dymelor, glipizida.

VALORES PREVISTOS:

O intervalo normal previsto para a % de HbA_{1c} utilizando o teste para HbA_{1c} DCA foi determinado através de ensaios a amostras de sangue de 103 indivíduos aparentemente saudáveis (glicose no sangue em jejum < 120 mg/dl). Não foram observadas diferenças significativas no intervalo normal entre homens e mulheres, localização geográfica ou grupos etários avaliados. O valor médio de HbA_{1c} foi 5,0% ± 0,35% (1 D.P.). O intervalo foi entre 4,2% e 6,5%. Os limites de confiança de 95% (média ± 2 D.P.) foram entre 4,3% e 5,7%. Estes valores são semelhantes aos registados na literatura⁹.

Dependendo da metodologia de ensaio utilizada, o HbA_{1c} consiste em aproximadamente 3 a 6% nos não diabéticos, 6 a 8% nos diabéticos controlados e pode chegar aos 20% ou mais em diabéticos com pouco controlo¹¹. No entanto, todos os laboratórios devem determinar os intervalos normais para estarem em conformidade com a população que está a ser testada.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS:

Os dados de precisão e correlação são resultados de estudos conduzidos pelo pessoal de diferentes consultórios médicos. Os cálculos de estatística foram efectuados de acordo com os procedimentos do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

Precisão: Ensaios múltiplos DCA 2000 de HbA_{1c} de dois controlos de sangue total diferentes, de preparação comercial, foram efectuados por três investigadores independentes. Os valores atribuídos indicados foram determinados a partir de estudos conduzidos pelo fabricante. A precisão da corrida foi avaliada ao incluir controlos normais e patológicos, em duplicado, em cada corrida de amostras clínicas.

Controlo	N.º de local	Valor atribuído (HbA _{1c})	Valor médio (HbA _{1c})	N.º Corridas	N.º Ensaios	Na Corrida		Entre Corridas	
						D.P.	% C.V.	D.P.	% C.V.
Normal	1	5,2	4,95	21	42	0,16	3,3	Negli.*	Negli.*
Normal	2	5,2	5,10	22	44	0,11	2,2	0,06	1,2
Normal	3	5,2	5,11	22	44	0,12	2,3	0,06	1,1
Patológico	1	11,9	11,32	21	42	0,34	3,0	Negli.*	Negli.*
Patológico	2	11,9	11,86	22	44	0,33	2,8	0,51	4,3
Patológico	3	11,9	11,81	22	44	0,44	3,7	0,11	0,9

*Negligível

Correlação: A percentagem de HbA_{1c} em amostras clínicas em intervalos entre 3,8 e 14,0% de HbA_{1c} (tanto venosa como capilar) foi determinada através do sistema DCA 2000 para HbA_{1c} (y) e da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com permuta iônica (x). Os resultados foram os seguintes:

N.º de local	Tipo de amostra	N.º de ensaios	Linha de regressão	Erro de estimativa padrão	Coeficiente de correlação
1	venosa	50	y = 0,91x + 0,26	0,42	0,98
1	capilar	50	y = 0,94x + 0,00	0,51	0,98
2	venosa	47	y = 0,89x + 0,42	0,39	0,98
2	capilar	47	y = 0,91x + 0,34	0,50	0,97
3	venosa	49	y = 0,94x + 0,34	0,42	0,98
3	capilar	50	y = 0,91x + 0,58	0,52	0,97

Além disso, foi realizado um estudo de correlação num centro universitário de diabetes através do sistema DCA 2000 para HbA_{1c} (y) e um HPLC¹² (x) de referência utilizado durante o DCCT.

N.º de local	Tipo de amostra	N.º de ensaios	Linha de regressão	Erro de estimativa padrão	Coeficiente de correlação
4	venosa	100	y = 1,02x - 0,00	0,45	0,98

Especificidade:

Efeito de variantes de hemoglobina: O anticorpo no ensaio de HbA_{1c} DCA é específico para os primeiros resíduos de aminoácidos do amino-terminal glicado da cadeia β da hemoglobina A. Qualquer molécula de hemoglobina glicada com a mesma estrutura será medida no ensaio. A maioria das variantes de hemoglobina glicada é imunorreactiva no ensaio de HbA_{1c} DCA (como, por exemplo, HbS1c, HbC1c e HbE1c). As mutações pontuais nestas moléculas ocorrem na posição 6 da cadeia β (HbS e HbC) e na posição 26 da cadeia β (HbE). Como tal, as mutações pontuais nestas variantes não afectam a ligação do anticorpo utilizado no ensaio de HbA_{1c} DCA. O DCA comunica valores de % HbA_{1c} que reflectem o controlo glicémico dos doentes com estas hemoglobinopatias^{13,14}.

Efeito de pré-HbA_{1c} (fracção instável): A fracção instável (ligação base Schiff de glicose a HbA ou pré-HbA_{1c}) não afecta o resultado do ensaio, porque o anticorpo é específico para a cetamina estável¹⁵.

Efeito da hemoglobina carbamilada: A hemoglobina carbamilada (elevada em doentes com uremia) não afecta o resultado do ensaio, porque o anticorpo é específico da fracção de açúcar de HbA_{1c}^{15,16}.

DISPONIBILIDADE:

O kit de reagente para HbA_{1c} DCA está disponível como REF 5035C (10). O kit de controlo CONTROL NORMAL normal e CONTROL ABNORMAL patológico DCA está disponível como REF 5068A.

GLOSSÁRIO DE ACRÓNIMOS

ADA: American Diabetes Association • CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute • DCCT: Diabetes Control and Complications Trial • IFCC: International Federation of Clinical Chemistry • NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program

BIBLIOGRAFIA:

1. DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 329 (1993): 977–986.
2. American Diabetes Association. Tests of Glycemia in Diabetes, in Clinical Practice Recommendations 2000. *Diabetes Care* Vol. 23 (January 2000): Suppl.1.
3. Craine, J. E. Latex agglutination immunoassays. *American Laboratory* 34 (May/June 1987).
4. Mayer, T. K., and Freedman, Z. R. Protein glycosylation in diabetes mellitus: A review of laboratory measurements and of their clinical utility. *Clin. Chem. Acta* 127 (1983): 147–184.
5. Baynes, J. W., Bunn, H. F., and Goldstein, D. E., et al. National Diabetes Data Group. Report of the Expert Committee on Glucosylated Hemoglobin. *Diabetes Care* 7 (1984): 602–606.
6. Koenig, R. J., Peterson, C. M., and Kilo, C., et al. Hemoglobin A1c as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes* 25 (1976): 230–232.
7. Nathan, D. M., Singer, D. E., Hurxthal, K., and Goodson, J. D. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N. Eng. J. Med.* 310 (1984): 341–346.
8. Larsen, M. L., Horder, M., and Mogensen, E. F. Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1021–1025.
9. Nathan, D. M. Hemoglobin A1c – Infatuation or the real thing? *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1062–1063.
10. Knowles, B. J., Haigh, W. B., Michaud, G. C., and Marchesi, V. T. A monoclonal antibody-based immunoassay for hemoglobin A1c. *Diabetes* 35 (1986): Suppl. 94A.
11. Goldstein, D. E., Little, R. R., and Wiedmeyer, H. M., et al. Glycated hemoglobin: Methodologies and clinical applications. *Clin. Chem.* 32 (1986): B64–B70.
12. Bodor, G. S., Little, R. R., Garrett, N., Brown, W., Goldstein, D. E., and Nahm, M. H. Standardization of glycohemoglobin determinations in the clinical laboratory: Three Years of Experience. *Clin. Chem.* 38 (1992): 2414–2418.
13. Weykamp, C. W., Pender, T. J., Muskiet, F. J., and Van der Silk, W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin. Chem.* 39 (1993): 1717–1722.
14. Eaton, S. E., Fielden, P., and Haisman, P. Glycated haemoglobin (HbA1c) measurements in subjects with haemoglobin variants, using the DCA 2000. *Ann. Clin. Biochem.* 34 (1997): 205–207.
15. Rose, A., Tongate, C., and Valdes, Jr., R. A hemoglobin A1c immunoassay method not affected by carbamylated hemoglobin. *Ann. Clin. Lab. Science* 25 (1995): 13–19.
16. Weykamp, C. W., Miedema, K., de Haan, T., and Doelman, C. J. A. Carbamylated Hemoglobin Interference in Glycohemoglobin Assays. *Clin. Chem.* 45 (1999): 438–440.

© 2011 Siemens Healthcare Diagnostics. Todos os direitos reservados.

DCA é uma marca comercial da Siemens Healthcare Diagnostics.

Diabinese é uma marca comercial registada da Pfizer, Inc.

Orinase, Tolinase e Micronase são marcas comerciais registadas da Upjohn, Inc.

Dymelor é uma marca comercial registada da E. Lilly and Co., Inc.

Origin: US

 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
Tarrytown, NY 10591-5097 USA

EC REP

Siemens Healthcare Diagnostics Ltd.

Sir William Siemens Sq.
Frimley, Camberley, UK GU16 8QD

Siemens Healthcare
Diagnostics Pty Ltd
885 Mountain Highway
Bayswater Victoria 3153
Australia

シーメンスヘルスケア・
ダイアグノстиクス株式会社
東京都品川区東五反田3-20-14
Siemens Healthcare Diagnostics

輸入

www.siemens.com/diagnostics



Για χρήση με τους αναλυτές DCA™

Ποσοτικός προσδιορισμός για την αιμοσφαιρίνη A_{1c} στο αίμα

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ:

Ο προσδιορισμός αυτός παρέχει μια βολική, ποσοτική μέθοδο για τη μέτρηση της ποσοστιαίας συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης A_{1c} στο αίμα. Η μέτρηση της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης A_{1c} συνιστά για την παρακολούθηση της μακροχρόνιας φροντίδας απόμνυμα με διαβήτη.

Η δοκιμή ελέγχου και επιπλοκών διαβήτη (Diabetes Control and Complications Trial, DCCT) κατέδειξε τη σημασία του βελτιωμένου γλυκαιμικού ελέγχου στη μείωση του κινδύνου και της εξέλιξης των επιπλοκών του διαβήτη.¹ Ο γλυκαιμικός ελέγχος προσδιορίστηκε από τη μέτρηση της αιμοσφαιρίνης A_{1c}. Η Αμερικανική Διαβήτηλογική Ένωση (American Diabetes Association, ADA) συνιστά τη μέτρηση των επιπλέοντας της αιμοσφαιρίνης A_{1c} δύο έως τέσσερις φορές ανά έτος, λιγότερο συχνά σε ασθενείς με σταθερό ελέγχο.²

Ο προσδιορισμός αυτός βασίζεται σε μια μεθοδολογία αναστολής της ανοσοσυγκόλλησης σε λάτεξ.³ Η πρότρωση της κασέτας εξέτασης αντιδραστηρίου στον αναλυτή DCA™, το αποτέλεσμα της εξέτασης εμφανίζεται σε έξι λεπτά.

Ο προσδιορισμός DCA Hemoglobin A_{1c} προορίζεται για χρήση σε εργαστήρια, για παράδειμα ιατρείων, κλινικών και νοσοκομείων.

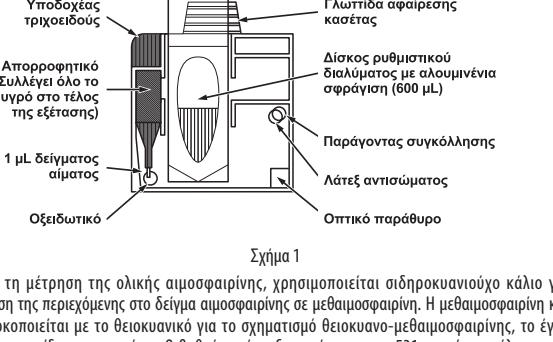
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ:

Η αιμοσφαιρίνη A_{1c} σχηματίζεται από τη μη ενζυμική γλυκοζυλώση του N-τελικού άκρου της β-αλουδίδας της αιμοσφαιρίνης A₀.⁴ Το επίπεδο της αιμοσφαιρίνης A_{1c} είναι αναλόγο προς το επίπεδο της γλυκόζης στο αίμα εε περίοδο περίπου δύο μηνών.⁵ Έτσι, η αιμοσφαιρίνη A_{1c} είναι αποδεκτή ως δείκτης της μέντης ημερήσιας συγκέντρωσης της γλυκόζης του αίματος κατά τους προηγούμενους δύο μήνες.^{6,7} Μελέτες έχουν δείξει ότι οι κλινικές τιμές που λαμβάνονται με τακτική μέτρηση της αιμοσφαιρίνης A_{1c} οδηγούν σε αλλαγές της θεραπείας του διαβήτη και στη βελτίωση του μεταβολικού ελέγχου, όπως υποδεικνύεται από μια μείωση των τιμών της αιμοσφαιρίνης A_{1c}.^{8,9}

ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ:

Μετράται τόσο η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης A_{1c} ειδικά όσο και η συγκέντρωση της ολικής αιμοσφαιρίνης και η αναλογία ανοφέρεται με ποσοστού αιμοσφαιρίνη A_{1c}.¹⁰

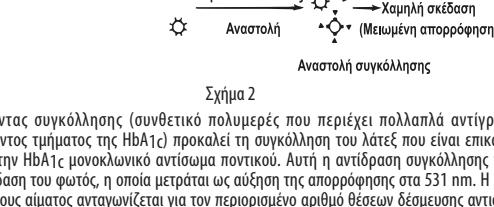
Όλα τα αντιδραστήρια για την εκτέλεση αμφότερων των αντιδράσεων περιέχονται στην κασέτα αντιδραστηρίου [REAGENT CARTRIDGE] DCA Hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) (Σχήμα 1).

Κασέτα αντιδραστηρίων DCA HbA_{1c}

Σχήμα 1

Για τη μέτρηση της ολικής αιμοσφαιρίνης, χρησιμοποιείται σιδηροκυανιούχο κάλιο για την οξείδωση της περιεχόμενης στο δείγμα αιμοσφαιρίνης σε μεθαμοσφαιρίνη. Η μεθαμοσφαιρίνη κατόπιν συμπλοκοποιείται με το θειοκυανικό για το σχηματισμό θειοκυανού-μεθαμοσφαιρίνης, το έγχρωμο χημικό συματίδιο που μετράται. Ο βαθμός ανάπτυξης χρώματος στα 531 nm είναι ενδόλογος προς τη συγκέντρωση της ολικής αιμοσφαιρίνης στο δείγμα.

Για τη μέτρηση της ειδικής HbA_{1c}, χρησιμοποιείται ένας προσδιορισμός αναστολής της συγκόλλησης σε λάτεξ (Σχήμα 2).

Αρχή του προσδιορισμού
Αναστολή της συγκόλλησης στο λάτεξ

Σχήμα 2

Ένας παράγοντας συγκόλλησης (συνθετικό πολυεμπέρευς που περιέχει την παρακαλητική αιμοσφαιρίνη A_{1c}) προκαλεί την συγκόλληση του λάτεξ που είναι επικαλυμμένο με ειδικό για την HbA_{1c} μονοκλωνικό αντιόματος ποντικού. Αυτή η αντιδραση συγκόλλησης προκαλεί αυξημένη σκέδαση του φωτός, η οποία μετράται στον περιορισμένο αριθμό θέσεων δέσμευσης αντισώματος-λάτεξ, προκαλώντας αναστολή της συγκόλλησης και μειώνοντας σκέδαση του φωτός. Η μειώνη σκέδασης μετράται ως μέντης της απορρόφησης στα 531 nm. Στη συνέχεια, η συγκέντρωση της HbA_{1c} ποσοτικοποιείται με χρήση καμπύλης βαθμονόμησης της απορρόφησης έναντι της συγκέντρωσης της HbA_{1c}.

Η ποσοστιαία HbA_{1c} στο δείγμα υπολογίζεται, κατόπιν, ως εξής:

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{[\text{HbA1c}]}{[\text{Ολική αιμοσφαιρίνη}]} \times 100$$

Η συγκέντρωση IFCC σε mmol/mol HbA_{1c} υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{HbA1c mmol/mol} = (\text{HbA1c mmol}) / (\text{mol ολικής αιμοσφαιρίνης})$$

Όλες οι μετρήσεις και οι υπολογισμοί εκτελούνται αυτόματα από τον αναλυτή DCA και στην οθόνη εμφανίζεται η HbA_{1c} στο τέλος του προσδιορισμού. Οι τιμές σε αυτό το ένθετο είναι σε % HbA_{1c} NGSP και όπου εμφανίζονται σε παρενθέσεις, παρατίθενται ως mmol/mol HbA_{1c} IFCC.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥ KIT:

- 10 κασέτες αντιδραστηρίων
- 1 Κάρτα βαθμονόμησης
- 11 υποδοχές τριχοειδών
- 2 ένθετα συσκευασίας

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ:

Λάτεξ αντισώματος: Ειδικό για την HbA_{1c} μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού προσδιορισμένο σε σωματίδια λάτεξ, 2,5% w/v αντίσωμα-λάτεξ σε 10 mM ρυθμιστικού διαλύματος γλυκίνης, 16% w/v μη αντιδρώντων συστατικών (10 μL απορρέματα σε κάθε κασέτα αντιδραστηρίου).

Παράγοντας συγκόλλησης: 0,005% w/v πολυεμπέρευς πολυ-(ασπαρτικό οξείος) ομοιοποιικό συνδέμενο στο απέντειο της HbA_{1c} σε 20 mM ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού νατρίου που περιέχει 0,1% w/v αλβιονίνη βεσούρο και 1% w/v μη αντιδρώντων συστατικών (10 μL απορρέματα σε κάθε κασέτα).

Ρυθμιστικό διάλυμα: 8,1% w/v θειοκυανικό λιθίου, 0,01% διγιτονίνης σε 200 mM ρυθμιστικού διαλύματος γλυκίνης (0,6 mL σε κάθε κασέτα).

Οξειδωτικό: 1,5% w/v αιθηροκυανιούχου καλίου σε νερό με 21% w/v μη αντιδρώντων συστατικών (10 μL απορρέματα σε κάθε κασέτα).

ΠΡΟΣΟΧΗ:

- Οι κασέτες αντιδραστηρίων DCA HbA_{1c} προορίζονται για **[IVD]** in vitro διαγνωστική χρήση.
- Κατά τη χρήση του συστήματος DCA, συνιστάται η χρήση γυαλιών ασφαλείας, γαντιών και η ένστωση με γραφαστηρική ρόμπα.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ:

- Για την πρόληψη τυχόν τραυματισμών, μην καταβάλετε δύναμη στην προσπάθεια αφαίρεσης της κασέτας από το όργανο. Συμβουλευτείτε τον Οδηγό χειρισμού για την επαλήθευση της κατάλληλης τεχνικής αφαίρεσης. Εάν δεν επιλύσετε το πρόβλημα, επικοινωνήστε με την τοπική οικεία παροχής τεχνικού δέρβη.

ΔΕΙΚΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ:

Κατά την παραλβή αυτού του kit, ελέγχετε το δείκτη θερμοκρασίας που βρίσκεται στο εμπρός της τιμής σε αυτό την ημερομηνία παραλβής και εάν χρειαστείτε βοήθεια σε όποια σημείο, ανατρέξτε στις οδηγίες που αναγράφονται στο χαρτονένιο κουτί.

ΦΥΛΑΞΗ:

Φυλάσσετε τις κασέτες αντιδραστηρίων στη συντήρηση του ψυγείου στους 2°C έως 8°C (36 έως 46°F).

15°C έως 30°C/59 έως 86°F Οι υποδοχές των τριχοειδών μπορούν να φυλαχθούν στη συντήρηση του ψυγείου ή σε θερμοκρασία δοματίου (15 έως 30°C/59 έως 86°F).

ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ:

Οι κασέτες αντιδραστηρίων μπορούν να διατηρηθούν έως τρεις μήνες σε θερμοκρασία δοματίου οποιασδήποτε στην ημερομηνία παραλβής από την ημερομηνία λήξης EXP. Σημειώστε στο χαρτονένιο κουτί, την ημερομηνία ποτε θέτοντας το χαρτονένιο κουτί σε θερμοκρασία δοματίου.

ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΕΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΓΙΑ ΧΕΙΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΚΑΣΕΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ:

Για να ανοίξετε την αλουμινένια θήκη, σχίστε από την εγκοπή της γυανίας (έως ότου ανοιχθεί ολόκληρη η θήκη).

Για χρήση με τους αναλυτές DCA™

Ποσοτικός προσδιορισμός για την αιμοσφαιρίνη A_{1c} στο αίμα

Απορρίψτε την κασέτα αντιδραστηρίων εάν η κασέτα έχει υποστεί ζημιά, εάν η γλωττίδα έλξης έχει χαλαρώσει ή λείπει, εάν ο παράγοντας αποξηράνσης λείπει ή εάν βρεθούν χαλαρά σωματίδια του αποστρατικού παράγοντα πάνω στην αλουμινένια θήκη.

Κατά την αφαίρεση από τη φύλακα στη συντήρηση του ψυγείου, αφήστε την κασέτα αντιδραστηρίων να περιέλθει σε θερμοκρασία δοματίου για 10 λεπτά (μέσα στη μη ανοιγμένη αλουμινένια θήκη) ή 5 λεπτά (έάν έχει αφαίρεσθε από την αλουμινένια θήκη). Μετά το άνοιγμα της αλουμινένιας θήκης, η κασέτα αντιδραστηρίων πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός (1) μίας ώρας.

ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΕΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΧΕΙΡΙΣΜΟ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΡΙΧΟΕΙΔΩΝ:

Οι μη χρησιμοποιημένοι παροδοχές τριχοειδών μπορούν να φυλαχθούν και να χρησιμοποιηθούν με οποιαδήποτε παρτίδα κασέτας αντιδραστηρίων. Καθώς υποδοχές τριχοειδών αυσκευάζεται ξεχωριστά σε συσκευασία φυσαλίδων. Για να αφαιρέσετε την υποδοχή τριχοειδών, αφαιρέστε τη λευκή πλαστική μεμβράνη από την παροδόχη τριχοειδών.

ΣΥΛΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΙΕΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ:

Το παρεκόμισμα γιαλίνιο τριχοειδές (εντός του πλαστικού υποδοχέα τριχοειδών) έχει χωρητικότητα 1 μL πλήρους αιμάτος. Οι δέιγμαί αιμάτος που μπορεί να ληφθεί με δακτυλοκέντηση ή φλεβοκέντηση. Αποδεκτά αντιπηκτικά είναι το EDTA, η πηράνη, το φθοριούχο/οξαλικό και το κιτρικό.

Σημαντικό: Μετά την πλήρωση την γιαλίνιο τριχοειδών με αιμάτος είναι επαρκές να περιέλθει σε δέιγμα επιστρέψεις της θερμοκρασίας δοματίου.

Το πλήρες αιμάτος που μπορεί να ληφθεί με δακτυλοκέντηση ή φλεβοκέντηση έχει διάρκεια 5 λεπτών.

Το πλήρες αιμάτος που μπορεί να ληφθεί με αιμοφλούτη έχει διάρκεια 10 λεπτών.

Το πλήρες αιμάτος που μπορεί να ληφθεί με αιμοφλούτη έχει διάρκεια 15 λεπτών.

Τα τριγλυκερίδια, έως τα 1347 mg/dL σε φρέσκο πλήρες αἷμα, δεν προκαλούν παρεμβολή στον προσδιορισμό αυτό. Δείγματα αἵματος με υψηλά επίπεδα λιπαΐματα που φυλάσσονται για μεγάλες χρονικές περιόδους ή καταψύχονται, δεν πρέπει να υποβάλλονται σε προσδιορισμό με χρήση της μεθόδου αυτής.

Ο ρευματοειδής παράγοντας, με τίτλο έως 1:5120, δεν προκαλεί παρεμβολή στον προσδιορισμό αυτού.

Αναμενόμενα επίπεδα ορού των ακόλουθων φαρμάκων που συνταγογραφώνται συνήθως σε άτομα με διαβήτη, δεν προκαλούν παρεμβολή στον προσδιορισμό αυτό: Diabinese, Orinase, Tolinase, Micronase, Dymelor, glipizide.

ANAMENOMENES TIMES:

Το αναμενόμενο έύρος φυσιολογικών τιμών για την % HbA1c με χρήση της εξέτασης DCA HbA1c ορίστηκε με προσδιορισμό δευτέρου αἵματος από 103 φαινομενικά υγιή άτομα (γιακόζη αἵματος νηστείας < 120 mg/dL). Δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά στο έύρος φυσιολογικών τιμών μεταξύ ανδρών και γυναικών, γεωγραφικής θέσης ή ηλικιακών ομάδων που αξιολογήθηκαν. Η μέση τιμή της HbA1c ήταν 5,0% ± 0,35%

(1 T.A.). Το εύρος τιμών ήταν 4,2% έως 6,5%. Τα όρια εμπιστοσύνης 95% (μέση τιμή ± 2 T.A.) ήταν 4,3% έως 5,7%. Αυτές οι τιμές είναι παρόμοιες με εκείνες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.⁷

Ανάλογα με τη μεθοδολογία του προσδιορισμού που χρησιμοποιείται, η HbA1c είναι περίπου 3 έως 6% σε μη διαβητικούς, 6 έως 8% σε ασθενείς με ελεγχόμενο διαβήτη και μπορεί να φθάσει σε επίπεδα έως 20% ή υψηλότερα σε ασθενείς με ανεπάρκων ελεγχόμενο διαβήτη.¹¹ Ωστόσο, κάθε εργαστήριο πρέπει να ορίζει τα εύρη φυσιολογικών τιμών, έτοις ώστε να είναι σύμφωνα με τον πληθυσμό που εξετάζεται.

EIDIKI KARAKTHRISETIKI APODOSHIS:

Τα δεδομένα ακριβείας και συσχέτισης είναι προϊόν των μελετών που διεξήχθησαν από το προσωπικό σε ξεχωριστά ιατρεία. Οι στατιστικοί υπολογισμοί εκτελέστηκαν σύμφωνα με τις διαδικασίες του Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

Ακρίβεια: Εκτελέστηκαν πολλαπλοί προσδιορισμοί DCA 2000 HbA1c δύο διαφορετικών, παρασκευασμένων στο εμπόριο ορών ελέγχου πλήρους αἵματος από τρεις ανεξάρτητους ερευνητές. Οι εκχωρημένες τιμές που παρατίθενται προσδιορίστηκαν από μελέτες που διεξήχθησαν από τον κατασκευαστή. Η ακρίβεια επαναληφθήκε μίας μέτρησης αξιολογήθηκε συμπεριλαμβάνοντας ορούς ελέγχου φυσιολογικών και μη φυσιολογικών τιμών εις διπλούν, σε κάθε ανάλυση κλινικών δειγμάτων.

Όρος ελέγχου	Αρ. τοποθεσίας	Εκχωρημένη τιμή (HbA1c)	Μέση τιμή (HbA1c)	Αρ. αναλύσεων	Αρ. προσδιορισμών	Ακρίβεια επαναληφθήκτας μίας μέτρησης	Μεταξύ αναλύσεων
Φυσιολογικός	1	5,2	4,95	21	42	0,16	3,3
Φυσιολογικός	2	5,2	5,10	22	44	0,11	2,2
Φυσιολογικός	3	5,2	5,11	22	44	0,12	2,3
Μη φυσιολογικός	1	11,9	11,32	21	42	0,34	3,0
Μη φυσιολογικός	2	11,9	11,86	22	44	0,33	2,8
Μη φυσιολογικός	3	11,9	11,81	22	44	0,44	3,7

*Αμελητέο

Συσχέτιση: Το ποσοστό της HbA1c σε κλινικά δείγματα που κυμαίνεται από 3,8 έως 14,0% HbA1c (τόσο σε φλεβικό όσο και σε τριχοειδικό δείγμα) προσδιορίστηκε με χρήση του συστήματος DCA 2000 HbA1c (γ) και υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης ανταλλαγής ιόντων (HPLC) (x). Τα αποτέλεσμα είχαν ως εξής:

Αρ. τοποθεσίας	Τύπος δείγματος	Αρ. προσδιορισμών	Γραμμή παλινδρόμησης	Τυπικό σφάλμα εκτίμησης	Συντελεστής συσχέτισης
1	φλεβικό	50	$y = 0,91x + 0,26$	0,42	0,98
1	τριχοειδικό	50	$y = 0,94x + 0,00$	0,51	0,98
2	φλεβικό	47	$y = 0,89x + 0,42$	0,39	0,98
2	τριχοειδικό	47	$y = 0,91x + 0,34$	0,50	0,97
3	φλεβικό	49	$y = 0,94x + 0,34$	0,42	0,98
3	τριχοειδικό	50	$y = 0,91x + 0,58$	0,52	0,97

Επιπλέον, διεξήχθη μια μελέτη συσχέτισης σε ένα πανεπιστημιακό κέντρο για το διαβήτη με χρήση του συστήματος DCA 2000 HbA1c (γ) και μιας HPLC αναφοράς¹² (x) που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της δοκιμής DCCT:

Αρ. τοποθεσίας	Τύπος δείγματος	Αρ. προσδιορισμών	Γραμμή παλινδρόμησης	Τυπικό σφάλμα εκτίμησης	Συντελεστής συσχέτισης
4	φλεβικό	100	$y = 1,02x - 0,00$	0,45	0,98

Ειδικότητα:

Επίδραση των παραλλαγών αιμοσφαιρίνης: Το αντίστοιχα στον προσδιορισμό DCA HbA1c είναι ειδικό για τα πρώτα λίγα υπολείμματα των αμινοξέων του γλυκοζυλιωμένου αμινοτελικού άκρου της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης ή. Οποιοδήποτε γλυκοζυλιωμένο μόριο αιμοσφαιρίνης έχει την ίδια δομή, θα μετράται στον προσδιορισμό. Οι περισσότερες παραλλαγές γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης είναι ανασυστιδώσιμες στον προσδιορισμό DCA HbA1c (όπως η HbS1c, η HbC1c και η HbE1c). Οι σημειακές μεταλλάξεις στα μόρια αυτά παρουσιάζονται στη θέση 6 της β-αλυσίδας (HbS και HbC) και στη θέση 26 της β-αλυσίδας (HbE). Έτσι, οι σημειακές μεταλλάξεις δεν επηρεάζουν τη δέσμευση του αντισώματος που χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό DCA HbA1c. Το DCA αναφέρει τιμές % HbA1c που αντανακλούν το γλυκαιμικό ελέγχο των ασθενών με αυτές τις αιμοσφαιρινόπαθειες.^{13,14}

Επίδραση της προ-HbA1c (Ασταθές κλάσμα): Το ασταθές κλάσμα (προσάρτηση Schiff της γλυκόζης σε HbA ή προ-HbA1c) δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα του προσδιορισμού, διότι το αντίστοιχο είναι ειδικό για τη σταθερή κετοαμίνη.¹⁵

Επίδραση της καρβαμολιωμένης αιμοσφαιρίνης: Η καρβαμολιωμένη αιμοσφαιρίνη (αυξημένη σε ασθενείς με ουραμία) δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα του προσδιορισμού, διότι το αντίστοιχο είναι ειδικό για το τιμήμα μορίου σακχάρου της HbA1c.^{15,16}

ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ:

Το κιτ αντιδραστήρων DCA HbA1c διατίθεται ως REF 5035C (συσκευασία των 10 τεμαχίων). Το κιτ CONTROL NORMAL φυσιολογικών και CONTROL ABNORMAL μη φυσιολογικών ορών ελέγχου DCA διατίθεται ως REF 5068A.

ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ ΑΚΡΩΝΥΜΩΝ

ADA: American Diabetes Association (Αμερικανική Διαβητολογική Ένωση) • **CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute (Ιδρυμα Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων)

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial (Διακυμή Ελέγχου και Επιπλοκών Διαβήτη) • **IFCC:** International Federation of Clinical Chemistry (Διεθνής Ομοσπονδία Κλινικής Χημείας)

NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program (Εθνικό Πρόγραμμα Τυποποίησης Γλυκαιμοσφαιρίνης)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

1. DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 329 (1993): 977–986.

2. American Diabetes Association. Tests of Glycemia in Diabetes, in Clinical Practice Recommendations 2000. *Diabetes Care* Vol. 23 (January 2000): Suppl.1.

3. Craine, J. E. Latex agglutination immunoassays. *American Laboratory* 34 (May/June 1987).

4. Mayer, T. K., and Freedman, Z. R. Protein glycosylation in diabetes mellitus: A review of laboratory measurements and of their clinical utility. *Clin. Chem. Acta* 127 (1983): 147–184.

5. Baynes, J. W., Bunn, H. F., and Goldstein, D. E., et al. National Diabetes Data Group. Report of the Expert Committee on Glycosylated Hemoglobin. *Diabetes Care* 7 (1984): 602–606.

6. Koenig, R. J., Peterson, C. M., and Kilo, C., et al. Hemoglobin A1c as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes* 25 (1976): 230–232.

7. Nathan, D. M., Singer, D. E., Hurxthal, K., and Goodson, J. D. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N. Eng. J. Med.* 310 (1984): 341–346.

8. Larsen, M. L., Horder, M., and Mogensen, E. F. Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1021–1025.

9. Nathan, D. M. Hemoglobin A1c – Infatuation or the real thing? *N. Eng. J. Med.* 323 (1990): 1062–1063.

10. Knowles, B. J., Haigh, W. B., Michaud, G. C., and Marchesi, V. T. A monoclonal antibody-based immunoassay for hemoglobin A1c. *Diabetes* 35 (1986): Suppl. 94A.

11. Goldstein, D. E., Little, R. R., and Wiedmeyer, H. M., et al. Glycated hemoglobin: Methodologies and clinical applications. *Clin. Chem.* 32 (1986): B64–B70.

12. Bodor, G. S., Little, R. R., Garrett, N., Brown, W., Goldstein, D. E., and Nahm, M. H. Standardization of glycated hemoglobin determinations in the clinical laboratory: Three Years of Experience. *Clin. Chem.* 38 (1992): 2414–2418.

13. Weykamp, C. W., Pender, T. J., Musket, F. J., and Van der Sil, W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycated hemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin. Chem.* 39 (1993): 1717–1722.

14. Eaton, S. E., Fielden, P., and Haisman, P. Glycated haemoglobin (HbA1c) measurements in subjects with haemoglobin variants, using the DCA 2000. *Ann. Clin. Biochem.* 34 (1997): 205–207.

15. Rose, A., Tongate, C., and Valdes, Jr., R. A. Hemoglobin A1c immunoassay method not affected by carbamylated hemoglobin. *Ann. Clin. Lab. Science* 25 (1995): 13–19.

16. Weykamp, C. W., Miedema, K., de Haan, T., and Doelman, C. J. A. Carbamylated Hemoglobin Interference in Glycohemoglobin Assays. *Clin. Chem.* 45 (1999): 438–440.

© 2011 Siemens Healthcare Diagnostics. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

To DCA είναι εμπορικό σήμα της Siemens Healthcare Diagnostics.

To Diabinese είναι σήμα κατατεθέν της Pfizer, Inc.

To Orinase, Tolinase και Micronase είναι σήματα κατατεθέντα της Upjohn, Inc.

To Dymelor είναι σήμα κατατεθέν της E. Lilly and Co., Inc.

Origin: US

Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

Tarrytown, NY 10591-5097 USA

EC REP

Siemens Healthcare Diagnostics Ltd.

Sir William Siemens Sq.

Frimley, Camberley, UK GU16 8QD

插入