

A-400 HbA_{1c} DIRECT

Cat. No 7-112

INTENDED USE

Diagnostic kit for determination of haemoglobin A_{1c} concentration intended to use in automatic analyzers BS-400 and BS-480.

The reagents must be used only for *in vitro* diagnostic, by suitably qualified laboratory personnel, only for the intended purpose, under appropriate laboratory conditions.

INTRODUCTION

The determination of HbA_{1c} is most commonly performed for the evaluation of glycemic control in diabetes mellitus. HbA_{1c} values provide an indication of glucose levels over the preceding 4-8 weeks.

Throughout the circulatory life of the red cell, hemoglobin A_{1c} is formed continuously by the adduction of glucose to the N-terminal of the hemoglobin beta chain. This process, which is non-enzymatic, reflects the average exposure of hemoglobin to glucose over an extended period. In a classical study, Trivelli et al [1] showed hemoglobin A_{1c} in diabetic subjects to be elevated 2-3 fold over the levels found in normal individuals. Several investigators have recommended that hemoglobin A_{1c} serve as an indicator of metabolic control of the diabetic, since hemoglobin A_{1c} levels approach normal values for diabetics in metabolic control [2,3,4].

Hemoglobin A_{1c} has been defined operationally as the "fast fraction" hemoglobins (HbA_{1a}, A_{1b}, A_{1c}) that elute first during column chromatography with cation-exchange resins. The non-glycosylated hemoglobin, which consists of the bulk of the hemoglobin has been designated HbA₀.

METHOD PRINCIPLE

Method for hemoglobin A_{1c} determination complies with standardized method certified by the National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP).

The present method utilizes the interaction of antigen and antibody to directly determine the HbA_{1c} concentration in whole blood.

Total hemoglobin and HbA_{1c} have the same unspecific absorption rate to latex particles. When mouse antihuman HbA_{1c} monoclonal antibody is added, latex-HbA_{1c}-mouse anti human HbA_{1c} antibody complex is formed. Agglutination is formed when goat anti-mouse IgG polyclonal antibody interacts with the monoclonal antibody. The amount of agglutination is proportional to the amount of HbA_{1c} absorbed on to the surface of latex particles.

The amount of agglutination is measured as absorbance.

The HbA_{1c} value is obtained from a calibration curve.

REAGENTS

Package

REAGENT 1	1 x 43 ml
REAGENT 2	1 x 16.5 ml
HEMOLYSING REAGENT	2 x 53 ml

The reagents (REAGENT 1, REAGENT 2) stored at 2-8°C and HEMOLYSING REAGENT stored at 2-25°C are stable

until expiry date printed on the package. The reagents are stable for 12 weeks on board the analyser at 2-10°C.

Concentrations in the test

latex	0.13%
mouse anti-human HbA _{1c} monoclonal antibody	0.05 mg/ml
goat anti-mouse IgG polyclonal antibody	0.08 mg/dl
stabilizers	
buffer	

Warnings and notes

- Protect from light and avoid contamination!
- It has been reported that results may be inconsistent in patients who have the following conditions: opiate addiction, lead-poisoning, alcoholism, ingest large doses of aspirin [6, 7, 8, 9].
- It has been reported that elevated levels of HbF may lead to underestimation of HbA_{1c} and, that uremia does not interfere with HbA_{1c} determination by immunoassay [10].
- This assay should not be used for the diagnosis of diabetes mellitus, but for monitor diabetic patients.
- In using Hemoglobin A_{1c} to monitor diabetic patients, results should be interpreted individually.
- Reagent HEMOLYSING REAGENT (Cat. No 4-398) can be ordered separately.
- Any clinical case with shortened erythrocyte survival (e.g. hemolytic anemia, blood loss, pregnancy) might cause decrease in HbA_{1c} values.

SPECIMEN

Venous blood collected with EDTA.

Hemoglobin A_{1c} in whole blood collected with EDTA is stable for 7 days at 2-8°C.

Nevertheless it is recommended to perform the assay with freshly collected samples!

Sample pretreatment:

- Dispense 500 µl HEMOLYSING REAGENT into tubes labeled: Control, Patients, etc.
- Place 10 µl of well mixed whole blood into the appropriately labeled lyse reagent tube. Mix well and allow to stand for minimum 5 minutes, until complete lysis is evident. Next mix sample for 5 minutes.
- The treated sample may be stored up to 10 days at 2-8°C. Mix sample again for 5 minutes before measurement.
- Note:** calibrators and controls should be also hemolysed according to sample pretreatment.

PROCEDURE

REAGENT 1 and REAGENT-2 are ready to use.

For reagent blank 0.9% NaCl is recommended.

Test result is read automatically and the value is reported in % of hemoglobin unit in accordance with NGSP standardization.

In order to convert the result reported in % haemoglobin (NGSP) to value reported in SI units mmol/mol in

accordance with IFCC standardization, the following master equation should be used:

$$\text{HbA}_{1c} [\text{mmol/mol IFCC}] = (\text{HbA}_{1c} [\% \text{ NGSP}] - 2.15) \times 10.929$$

REFERENCE VALUES ¹¹

Non-diabetes < 6%

Patients with diabetes, control of glycaemia < 7%

It is recommended for each laboratory to establish its own reference ranges for local population.

QUALITY CONTROL

For internal quality control it is recommended to use the CORMAY HbA_{1c} DIRECT CONTROLS (Cat. No 4-328) with each batch of samples.

For the calibration of automatic analysers systems the CORMAY HbA_{1c} DIRECT CALIBRATORS (Cat. No 4-308) are recommended. Deionised water should be used as a calibrator 0.

Controls and calibrators should be treated with HEMOLYSING REAGENT.

The calibration curve should be prepared every 5 weeks, with change of reagent lot number or as required e.g. quality control findings outside the specified range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

These metrological characteristics have been obtained using automatic analyser BS-400 and/or BS-480 and/or Hitachi 717. Results may vary if a different instrument is used.

- Analytical range:** 2 – 16% (up to 151 mmol/mol).

Specificity / Interferences

Bilirubin up to 50 mg/dl, triglycerides up to 2000 mg/dl, ascorbate up to 50 mg/dl, carbamylated Hb up to 7.5 mmol/l and acetylated Hb up to 5.0 mmol/l do not interfere with the test.

Precision (% HbA_{1c})

Repeatability (run to run)		Mean [%]	SD [%]	CV [%]
BS 400 (n = 10)	level 1	5.54	0.06	1.05
	level 2	10.65	0.05	0.46
BS 480 (n = 10)	level 1	5.26	0.09	1.62
	level 2	11.87	0.06	0.51
Reproducibility (day to day)		Mean [%]	SD [%]	CV [%]
BS 400 (n = 10)	level 1	5.73	0.10	1.75
	level 2	11.13	0.12	1.07
BS 480 (n = 10)	level 1	5.36	0.17	3.12
	level 2	11.56	0.18	1.53

Method comparison

A comparison between HbA_{1c} values determined at **BS-400** (y) and at **ADVIA 1650** (x) using 81 samples gave following results:

$$y = 0.945 x + 0.294$$

$$R = 0.987 \quad (R - \text{correlation coefficient})$$

A comparison between HbA_{1c} values determined at **BS-480** (y) and at **ADVIA 1650** (x) using 69 samples gave following results:

$$y = 0.925 x + 0.529$$

$$R = 0.982 \quad (R - \text{correlation coefficient})$$

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

LITERATURE

- Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284,353 (1971).
- Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
- Gabbay, K.H., Hasty, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
- Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 16 (Jan. 1978).
- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 794-795 (1999).
- Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, 379 (1982).
- Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32, 358-360 (1986).
- Fluckiger, R., et al, New Eng. J. Med. 304, 823-827 (1981).
- Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, 466-469 (1983).
- Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, 93-97 (1989).
- American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).

Date of issue: 05. 2018.



A-400 HbA_{1c} DIRECT

Кат.№ 7-112

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Диагностический набор для определения концентрации гемоглобина A_{1c}, предназначен для использования на автоматических анализаторах BS-400 и BS-480.

Реагенты должны использоваться только для диагностики in vitro, квалифицированным лабораторным персоналом, в целях, для которых они предназначены, в соответствующих лабораторных условиях.

ВВЕДЕНИЕ

Определение содержания HbA_{1c} используется при долгосрочном мониторинге больных диабетом. Уровень HbA_{1c} в крови человека пропорционален содержанию глюкозы, и потому широко используется в качестве индикатора усредненной по времени (4-8 недель) концентрации глюкозы в крови. Гемоглобин (HbA_{1c}) является продуктом реакции глюкозы с N-концевыми группами β-цепей глобина.

Этот ферментативный процесс отражает усредненное воздействие глюкозы на гемоглобин за длительный период.

В классическом исследовании Trivelli и др. [1] показано, что гемоглобин A_{1c} у диабетиков повышен в 2-3 раза по сравнению с уровнем у здоровых людей. Некоторые исследователи отмечали, что гемоглобин A_{1c} может служить показателем контроля метаболизма при диабете, поскольку уровень гемоглобина A_{1c} у диабетиков приближается к нормальным величинам при регуляции обмена веществ. [2,3,4].

Гемоглобин A_{1c} операционно был определен как «быстрая фракция» гемоглобинов (HbA_{1a}, A_{1b}, A_{1c}), которая первой элюируется при колоночной хроматографии с катионообменной смолой. Негликозилированный гемоглобин, который составляет основную часть гемоглобина, обозначается HbA₀.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения гемоглобина A_{1c} в соответствии с стандартизированным методом сертифицированным Национальной Программой По Стандартизации Исследований Гликогемоглобина (NGSP).

Данный метод использует взаимодействие антигена и антитела для прямого определения концентрации HbA_{1c} в цельной крови.

Общий гемоглобин и HbA_{1c} имеют одинаковые неспецифические скорости абсорбции на латексных частицах. При добавлении мышиных моноклональных антител

к человеческому HbA_{1c}, образуется комплекс латекс-HbA_{1c}-мышиные антитела к HbA_{1c} человека. Когда козы поликлональные антитела IgG взаимодействуют с моноклональными антителами мыши, происходит агглютинация. Количественно агглютинация пропорциональна количеству HbA_{1c} абсорбированному на поверхности латексных частиц.

Количественно агглютинация измеряется как абсорбция. Значение HbA_{1c} получается по калибровочной кривой.

РЕАГЕНТЫ

Состав набора

REAGENT 1	1 x 43 мл
REAGENT 2	1 x 16,5 мл
HEMOLYSING REAGENT	2 x 53 мл

Реагенты (REAGENT 1, REAGENT 2) при 2-8°C и HEMOLYSING REAGENT при 2-25°C сохраняют стабильность в течение всего срока годности, указанного на упаковке. На борту анализатора, при 2-10°C реагенты стабильны 12 недель.

Концентрации компонентов в реагентах

латекс	0,13%
моноклональные антитела мыши к HbA _{1c} человека	0,05 мг/мл
козы анти-мышинные поликлональные IgG антитела стабилизаторы	0,08 мг/дл

Предостережения и примечания

- Защищать от света и избегать загрязнения!
- Реагенты должны использоваться только по назначению, квалифицированным лабораторным персоналом, в соответствующих лабораторных условиях.
- Сообщалось, что результаты могут быть ложными у пациентов при следующих условиях: прием опиатов, отравление свинцом, алкоголизм, прием больших доз аспирина [6, 7, 8, 9].
- Сообщалось, что повышенные уровни HbF могут приводить к недооценке HbA_{1c} и, что уремия не влияет на иммунологическое определение HbA_{1c} [10].
- Это исследование не следует использовать для диагностики диабета, а только в целях мониторинга пациентов с установленным диабетом.
- При использовании гемоглобина A_{1c} для мониторинга пациентов с диабетом результаты должны интерпретироваться индивидуально.
- Реагент HEMOLYSING REAGENT (Кат.№ 4-398) может быть заказан отдельно.
- Клинические случаи, характеризующиеся более короткой длительностью жизни эритроцитов (нп. гемолитическая анемия, потеря крови, беременность) могут быть причиной снижения величины HbA_{1c}.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Венозная кровь на ЭДТА.

Гемоглобин A_{1c} в цельной крови, отобранной на ЭДТА, стабилен до 7 суток при 2-8°C.

Тем не менее рекомендуется производить исследования на свежем взятом биологическом материале!

Предварительная обработка проб:

- Диспенсируйте 500 мкл HEMOLYSING REAGENT в пробирки, помеченные: Контроль, Пациенты, и т.д.
- Поместите 10 мкл хорошо перемешанной крови в предварительно помеченные пробирки с лизирующим реагентом. Образец необходимо тщательно перемешать и отставить на минимум 5 минут, пока не станет заметен лизис. Затем образец тщательно перемешивайте в течение 5 минут.
- Обработанные пробы могут храниться до 10 суток при 2-8°C. Перед измерением повторно перемешайте образец в течение 5 минут.
- Примечание:** Калибраторы и контроли также следует гемолизировать, как и пробы.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

1-Reagent и 2-Reagent готовы к использованию.

В качестве бланк-реагента рекомендуется 0,9% NaCl.

Результат рассчитанный автоматически выражается в единицах % согласно стандартизации NGSP.

Для пересчета результата на значения выраженные в единицах SI ммоль/моль согласно стандартизации IFCC необходимо воспользоваться данным уравнением:

$$\text{HbA}_{1c} [\text{ммоль/моль IFCC}] = (\text{HbA}_{1c} [\% \text{ NGSP}] - 2,15) \times 10,929$$

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ¹¹

Пациенты без сахарного диабета: < 6%

Пациенты с диабетом, гликемический контроль: < 7%

Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормы, характерные для обследуемого контингента.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется использовать CORMAY HbA_{1c} DIRECT CONTROLS (Кат.№ 4-328) для каждой серии измерений.

Для калибровки автоматических анализаторов рекомендуется CORMAY HbA_{1c} DIRECT CALIBRATORS (Кат.№ 4-308).

В качестве 0-калибратора рекомендуется использовать 0,9% NaCl.

Контроли и калибраторы следует обработать реагентом HEMOLYSING REAGENT.

Калибровочную кривую следует составлять каждые 5 недель, при каждой смене лота реагента или при необходимости, напр., если результаты контроля качества не попадают в референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Эти метрологические характеристики были получены при использовании автоматических анализаторов BS-400 и / или BS-480 и / или Hitachi 717. Результаты, полученные на других анализаторах, могут отличаться.

■ **Аналитический диапазон:** 2 – 16% (до 151 ммоль/моль).

■ Специфичность / Интерференции

Билирубин до 50 мг/дл, триглицериды до 2000 мг/дл, аскорбат до 50 мг/дл, карбаминогемоглобин до 7,5 ммоль/л, ацетилированный гемоглобин до 5,0 ммоль/л не влияют на результаты определений.

■ Точность (% HbA_{1c})

Повторяемость (между сериями)	Среднее [%]	SD [%]	CV [%]	
BS 400	уровень 1	5,54	0,06	1,05
	уровень 2	10,65	0,05	0,46
BS 480	уровень 1	5,26	0,09	1,62
	уровень 2	11,87	0,06	0,51
Воспроизводимость (изо дня в день)	Среднее [%]	SD [%]	CV [%]	
BS 400	уровень 1	5,73	0,10	1,75
	уровень 2	11,13	0,12	1,07
BS 480	уровень 1	5,36	0,17	3,12
	уровень 2	11,56	0,18	1,53

■ Сравнение метода

Сравнение результатов определения HbA_{1c}, произведенных на анализаторах **BS-400** (у) и **ADVIA 1650** (х) для 81 образцов дало следующие результаты:

$$y = 0,945 x + 0,294$$

$$R = 0,987 \quad (R - \text{коэффициент вариации})$$

Сравнение результатов определения HbA_{1c}, произведенных на анализаторах **BS-480** (у) и **ADVIA 1650** (х) для 69 образцов дало следующие результаты:

$$y = 0,925 x + 0,529$$

$$R = 0,982 \quad (R - \text{коэффициент вариации})$$

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с локальными требованиями.

ЛИТЕРАТУРА

- Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284,353 (1971).
- Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
- Gabbay, K.H., Hasty, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
- Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 16 (Jan. 1978).
- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 794-795 (1999).
- Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, 379 (1982).
- Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32, 358-360 (1986).
- Fluckiger, R., et al, New Eng. J. Med. 304, 823-827 (1981).
- Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, 466-469 (1983).
- Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, 93-97 (1989).
- American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).

Дата создания: 05. 2018.



A-400 HbA1c DIRECT

PROGRAM NA ANALIZATORY / APPLICATION for / АДАПТАЦІЯ для:
 • BS-400

• **Basic**

Test information

No.	61
Test	HbA1C
Full Name	HbA1C
Std. No.	61

Reagent Volume

R1	180
R2	60
R3	
R4	

Sample Volume

Standard	4	15	10
Increased	8	15	10
Decreased	2	15	10

Reaction Parameters

Reac. Type	Endpoint	Direction	Increase
Pri. Wave	660	Rtg. Blank	0 0
Sec. Wave		Reac. Time	79 80

Result Setup

Decimal	0.01	Slope	1
Unit	%	Inter	0

Judgment Criteria

Absorbance	0 0	Lin. Range		<input type="checkbox"/> Prozone	<input type="checkbox"/> Rate	<input type="checkbox"/> Antigen
Incr. Test	0	Lin. Limit		O1 0	O2 0	O3 0
Decre. Test	0	Subs. Limit		PC 0	ABS 0	O4 0

• **Calibration**

Calibration

Rule	Spline
Replicate	2
K	

Judgment Criteria

Sensitivity		Blank Abs.	
Factor Diff.		Error Limit	
SD		Corr. Coeff.	

• **QC**

Rules

Westgard Multi-rule		Cum. Sum Check		Auto OC	
<input checked="" type="checkbox"/> 1-2S	<input checked="" type="checkbox"/> R-4S	1.0 - 2.7		Interval	
<input checked="" type="checkbox"/> 1-3S	<input checked="" type="checkbox"/> 4-1S	• 1.0 - 3.0			
<input checked="" type="checkbox"/> 2-2S	<input checked="" type="checkbox"/> 10-X	0.5 - 5.1			

• **BS-480**

Chem	HbA1C	No.	061	Sample Type	OTHER
Chemistry	HbA1C DIRECT			Print name	HbA1C
Reaction Type	Endpoint	Reaction Direction	Increase		
Pri Wave	660	Sec Wave			
Unit	%	Decimal	0.01		
Blank Time		Reaction Time	81		82

	Sample Vol	Aspirated	Diluent	Reagent Vol	Diluent
Standard	4 uL			R1 180 uL	
Decreased				R2 60 uL	
Increased				R3	
				R4	

Linearity Range (Standard) Linearity Limit

Linearity Range (Decreased)

Linearity Range (Increased)

R1 Blank Abs -33000 33000

Blank Response -33000 33000

Twin Chemistry

Prozone Check Rate Check

O1 0 O2 0

PC 0 ABS 0

Substrate Depletion

Mixed Blank Abs -33000 33000

Uncapping Time 84 Dav(s)

Reagent Alarm Limit

Enzyme Linear Extension

• Antigen Addition

O3 0 O4 0

Calibration Settings

Math Model	Spline		
Factor		Replicates	2

Auto Calibration

<input type="checkbox"/> Bottle Changed
<input type="checkbox"/> Lot Changed
<input type="checkbox"/> Cal Time

Acceptance Limits

Cal Time	840	Hour	
Slope Diff		SD	
Sensitivity		Repeatability	
Deter Coeff			

Data wydania:/ Date of issue:/ Дата создания: 05.2018.