

# HbA1c II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II

Standardized according to IFCC; transferable to DCCT/NGSP

● Indicates Roche/Hitachi analyzer(s) on which kit(s) can be used

Cat. No.	Bottle	Contents	717	747	902	904	911 912	917	MOD P	MOD D
11822039	1	REAGENT 4 x 17 mL								
	2	REAGENT 4 x 4 mL								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 mL	●	●	●	●	●	●	●	
	4	REAGENT 4 x 17 mL								
11822080	1	REAGENT 2 x 66 mL								
	2	REAGENT 2 x 16 mL								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 mL		●				●	●	
	4	REAGENT 2 x 66 mL								
11822098	1	REAGENT 2 x 71 mL								
	2	REAGENT 2 x 17 mL								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 mL	●	●			●			
	4	REAGENT 2 x 71 mL								
11822497	1	REAGENT 40 x 66 mL								
	2	REAGENT 40 x 16 mL								
	3a-d	CALIBRATOR → 32 x 2 mL		●				●	●	
	4	REAGENT 40 x 66 mL								

Some analyzers and kits shown may not be available in all countries. For additional system applications, contact your local Roche Diagnostics representative.

## English

### System information

For Roche/Hitachi 904/911/912: ACN 027, ACN 125, ACN 162, ACN 165.

For Roche/Hitachi 917/MODULAR P: ACN 027, ACN 125, ACN 802

(US code 812), ACN 803 (US code 813).

### Intended use

Immunological assay for the in vitro quantitative determination of hemoglobin A1c in whole blood on Roche automated clinical chemistry analyzers. HbA1c determinations are utilized in the long-term monitoring of glycemia.

### Summary<sup>1-9</sup>

Hemoglobin (Hb) consists of four protein chains with four heme portions, and is the red-pigmented protein located in the erythrocytes. Its main function is the transport of oxygen and carbon dioxide in blood. Each Hb molecule is able to bind four oxygen molecules. Hb consists of a variety of subfractions and derivatives. Among this heterogeneous group of hemoglobins HbA1c is one of the glycosylated hemoglobins, a subfraction formed by the attachment of various sugars to the Hb molecule. HbA1c is formed in two steps by the non-enzymatic reaction of glucose with the N-terminal amino group of the β-chain of normal adult Hb (HbA). The first step is reversible and yields labile HbA1c. This slowly rearranges in the second reaction step to yield stable HbA1c.

In the erythrocytes, the relative amount of HbA converted to stable HbA1c increases with the average concentration of glucose in the blood. The conversion to stable HbA1c is limited by the erythrocyte's life span of approximately 100 to 120 days. As a result, HbA1c reflects the average blood glucose level during the preceding 2 to 3 months. HbA1c is thus suitable to monitor long-term blood glucose control in individuals with diabetes mellitus. More recent glucose levels have a greater influence on the HbA1c level.<sup>1</sup> The approximate relationship between HbA1c and mean blood glucose value during the preceding 2 to 3 months has been analyzed by several studies. A recent study obtained the following correlation:

### DCCT / NGSP Standardization<sup>8</sup>

$$\text{Mean plasma glucose [mmol/L]} = 1.98 \times \text{HbA1c (\%)} - 4.29$$

$$\text{Mean plasma glucose [mg/dL]} = 35.6 \times \text{HbA1c (\%)} - 77.3$$

### IFCC Standardization (recalculated acc. to Ref. 8)

$$\text{Mean plasma glucose [mmol/L]} = 1.73 \times \text{HbA1c (\%)} + 0.20$$

$$\text{Mean plasma glucose [mg/dL]} = 31.2 \times \text{HbA1c (\%)} + 3.51$$

The risk of diabetic complications, such as diabetic nephropathy and retinopathy increases with poor metabolic control. In accordance with its function as an indicator for the mean blood glucose level, HbA1c predicts the risk for the development of diabetic complications in diabetes patients.<sup>3,5</sup>

For routine clinical use, testing every 3 to 4 months is generally sufficient. In certain clinical situations, such as pregnancy diabetes or after a major change in therapy, it may be useful to measure HbA1c in 2 to 4 week intervals.<sup>7</sup>

### Test principle<sup>10</sup>

This method uses TTAB\* as the detergent in the hemolyzing reagent to eliminate interference from leukocytes (TTAB does not lyse leukocytes). Sample pretreatment to remove labile HbA1c is not necessary.

All hemoglobin variants which are glycosylated at the β-chain N-terminus and which have antibody-recognizable regions identical to that of HbA1c are determined by this assay. Consequently, in contrast to chromatographic methods, the metabolic state of diabetic patients having hemoglobinopathies or uremia can be determined using this assay.

### Hemoglobin A1c

The HbA1c determination is based on the turbidimetric inhibition immunoassay (TINIA) for hemolyzed whole blood.

- Sample and addition of R1 (buffer/antibody)  
Glycohemoglobin (HbA1c) in the sample reacts with anti-HbA1c antibody to form soluble antigen-antibody complexes. Since the specific HbA1c antibody site is present only once on the HbA1c molecule, complex formation does not take place.
- Addition of R2 (buffer/polyhapten) and start of reaction:  
The polyhapten react with excess anti-HbA1c antibodies to form an insoluble antibody-polyhapten complex which can be determined turbidimetrically.

Hemoglobin  
The hemoglobin concentration is determined in a second channel. Liberated hemoglobin in the hemolyzed sample is converted to a derivative having a characteristic absorption spectrum which is measured bichromatically.

### Reagents – working solutions

#### HbA1c

R1 MES buffer<sup>\*\*</sup>: 0.025 mol/L; TRIS buffer<sup>\*\*\*</sup>: 0.015 mol/L, pH 6.2; HbA1c antibody (ovine serum): ≥ 0.5 mg/mL; stabilizers

R2 MES buffer<sup>\*\*</sup>: 0.025 mol/L; TRIS buffer<sup>\*\*\*</sup>: 0.015 mol/L, pH 6.2; HbA1c polyhapten: ≥ 8 μg/mL; stabilizers

3a-d Hemolysate derived from human blood and ovine blood; TTAB<sup>\*</sup>: 9 g/L; stabilizer

#### Hemoglobin

R1 Phosphate buffer: 0.02 mol/L, pH 7.4; stabilizers

\* TTAB = Tetradecyltrimethylammonium bromide

\*\* MES = 2-morpholinoethane sulfonic acid

\*\*\* TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethane

### Precautions and warnings

For in vitro diagnostic use.



# HBA1C II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II



Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents. Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines. All human material should be considered potentially infectious. All products derived from blood are prepared exclusively from the blood of donors tested individually and shown by FDA-approved methods to be free from HBsAg and antibodies to HCV and HIV.

However, as no testing method can rule out the potential risk of infection with absolute certainty, the material should be treated just as carefully as a patient specimen. In the event of exposure the directives of the responsible health authorities should be followed.<sup>11,12</sup>

This kit contains components classified as follows according to the European directive 88/379/EEC.

Xi - Irritant (tetradecyltrimethylammonium bromide, TTAB), R36/38; S24/25.

Irritating to eyes and skin. Avoid contact with skin and eyes.

Contact 'phone: all countries: +49-621-7590, USA: +1-800-428-2336

Safety data sheet available for professional user on request.

## Reagent handling

HbA1c

R1: Ready for use

R2: Ready for use

Hemoglobin

R1 (bottle 4): Ready for use

Calibrators 3a-d:

Carefully open each bottle, avoiding the loss of lyophilizate. Pipette exactly 2.0 mL of distilled or deionized water into each bottle. Mix gently, avoiding the formation of foam. Let stand 30 minutes before use.

## Storage and stability

Unopened kit components: up to the expiration date at 2-8°C

HbA1c

R1: 28 days opened and refrigerated on the analyzer

R2: 28 days opened and refrigerated on the analyzer

Hemoglobin

R1: 28 days opened and refrigerated on the analyzer

Calibrators: 8 hours at 15-25°C

2 days at 2-8°C

3 months at (-15) - (-25)°C

Freeze the calibrators immediately after reconstitution if they are to be used again. Freeze in discrete aliquots if necessary.

## Specimen collection and preparation

Only the specimens listed below were tested and found acceptable.

Capillary, EDTA- or heparinized blood

Stability:<sup>13</sup> 3 days at 15-25°C

7 days at 2-8°C

6 months at (-15) - (-25)°C (freeze once only)

## Sample preparation

Capillary blood

Obtain blood sample with a disposable capillary tube, and place the filled tube in a test tube with 100-times as much hemolyzing reagent (e.g. 20 µL capillary tube in 2000 µL hemolyzing reagent). Close the test tube and wash the blood out of the capillary tube by shaking vigorously. Then mix the solution by either swirling gently or by using a vibration mixer. The hemolysate can be used after the foam has subsided and the solution has changed color from red to brown-green (approx. 1-2 min).

Stability of the hemolysate: 24 hours at 2-8°C

6 months at (-15) - (-25)°C

Bring the hemolyzing reagent to room temperature prior to use.

EDTA- or heparinized blood

Immediately prior to pipetting the sample, mix the sample thoroughly to obtain uniform distribution of the erythrocytes. Avoid the formation of foam.

Pipette into a test tube or sample cup:

Hemolyzing reagent	1000 µL
EDTA- or heparinized blood	10 µL

Bring the hemolyzing reagent to room temperature prior to use.

Mix using a vibration mixer or by gentle swirling. Avoid the formation of foam. The hemolysate can be used after the solution has changed color from red to brownish-green (approx. 1-2 min).

Stability of the hemolysate: 4 hours at 15-25°C

24 hours at 2-8°C

6 months at (-15) - (-25)°C

## Materials provided

• See "Reagents-working solutions" section for reagents and calibrators.

## Materials required (but not provided)

- Controls: Precinorm HbA1c, Cat. No. 11488422 (USA # 1488422); Precipath HbA1c, Cat. No. 11488449 (USA # 1488449).
- Hemolyzing reagent for HbA1c, Cat. No. 11488457 (USA # 1488457)
- 0.9% NaCl
- General laboratory equipment

## Assay

For optimal performance of the assay follow the directions given in this document for the analyzer concerned. Refer to the appropriate operator manual for analyzer-specific assay instructions.

The performance of applications not validated by Roche is not warranted and must be defined by the user.

## Calibration

Traceability:

This method has been standardized against the approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood<sup>14,15</sup> and can be transferred to results traceable to DCCT/NGSP by calculation.

HbA1c

S1: 0.9% NaCl

S2-5: Calibrators 3a-d

Enter the lot-specific calibrator values to two decimal places.

Hemoglobin

S1: 0.9% NaCl

S2: Calibrator 3a

Enter the lot-specific calibrator values to one decimal place.

The calibrators do not require pretreatment with the hemolyzing reagent for HbA1c.

Calibration frequency

Full calibration is recommended

- after reagent lot change
- after cuvette change
- as required following quality control procedures

Calibration verification: Not necessary.

## Quality control

For quality control, use control materials as listed above. Other suitable control material can be used in addition.

The control intervals and limits should be adapted to each laboratory's individual requirements. Values obtained should fall within the defined limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Precinorm HbA1c and Precipath HbA1c do not require pretreatment with the hemolyzing reagent for HbA1c.

## Calculation

Protocol 1 according to IFCC

Calculation of the hemoglobin A1c concentration in percent is made via the HbA1c/Hb quotient, e.g.

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{\text{HbA1c [g/dL]}}{\text{Hb [g/dL]}} \times 100$$

Protocol 2 according to DCCT/NGSP

Calculation of the hemoglobin A1c concentration in percent is made via the correction formula:

$$\% \text{ HbA1c} = (87.6 \times \frac{\text{HbA1c [g/dL]}}{\text{Hb [g/dL]}}) + 2.27$$



# HbA1c II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II



For automatic calculation, this equation must be entered under PROGRAM "Calculated TEST" on the Roche/Hitachi 717, "Test Calculation" on the Roche/Hitachi 902, "TEST CALCULATION 04-03" on the Roche/Hitachi 911, "Main/Utility, Calcu Test, Calc" on the Roche/Hitachi 912/917 and "Utility, Calc Test" on the Roche/Hitachi MOD P.

## Limitations – interference<sup>16–22</sup>

- For diagnostic purposes, %HbA1c values should be used in conjunction with information from other diagnostic procedures and clinical evaluations.
- The test is designed only for accurate and precise measurement of %HbA1c. The individual results for total Hb and HbA1c concentration should not be reported.
- The test is not intended for the diagnosis of diabetes mellitus or for judging day-to-day glucose control and should not be used to replace daily home testing of urine or blood glucose.
- Any cause of shortened erythrocyte survival will reduce exposure of erythrocytes to glucose with a consequent decrease in %HbA1c values even though the time-averaged blood glucose level may be elevated. Causes of shortened erythrocyte lifetime might be hemolytic anemia or other hemolytic diseases, homozygous sickle cell trait, pregnancy, recent significant or chronic blood loss, etc. Caution should be used when interpreting the HbA1c results from patients with these conditions.

Criterion: Recovery within  $\pm 10\%$  of initial value.

Icterus: No significant interference up to 50 mg/dL or 855  $\mu\text{mol/L}$  (conjugated and unconjugated bilirubin).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to a triglycerides concentration of 800 mg/dL or 9.12 mmol/L. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Rheumatoid factor < 750 IU/mL and ascorbic acid < 50 mg/dL (2.84 mmol/L) do not interfere.

In very rare cases gammopathy, in particular type IgM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.

For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

## Measuring range<sup>16</sup>

The measuring range for HbA1c lies between 0.3 g/dL (0.124 mmol/L) and the concentration of the highest standard. This corresponds to a measuring range of 2–16% hemoglobin A1c at a typical hemoglobin concentration of 15 g/dL or 9.3 mmol/L (IFCC values; corresponding NGSP/DCCT values 4–16%). As the concentration of the highest standard is lot-specific, this should - where appropriate - be taken into account in the instrument settings for the upper limit of the measuring range.

If the HbA1c concentration is above that of the highest standard, dilute the hemolysate 1 + 1 (or the original sample 1 + 200) with hemolyzing reagent and repeat the two determinations (HbA1c and Hb). No conversion factor is required for the % HbA1c result.

If the HbA1c concentration is below 0.3 g/dL, then the original sample must be diluted 1 + 50 with hemolyzing reagent and the two determinations (HbA1c and Hb) repeated. No conversion factor is required for the %HbA1c result.

Measuring range for hemoglobin: 6–30 g/dL (3.73–18.6 mmol/L).

## Expected values

Metabolically healthy patients.

Protocol 1 (according to IFCC):  
2.9–4.2% HbA1c<sup>23</sup>

Protocol 2 (according to DCCT/NGSP): 4.8–5.9 % HbA1c.<sup>23</sup>

HbA1c levels above the established reference range are an indication of hyperglycemia during the preceding 2 to 3 months or longer. HbA1c levels may reach 20% or higher in poorly controlled diabetes. Therapeutic action is suggested at levels above 8%. Diabetes patients with HbA1c levels below 7% meet the goal of the American Diabetes Association.<sup>19,20</sup>

HbA1c levels below the established reference range may indicate recent episodes of hypoglycemia, the presence of Hb variants, or shortened lifetime of erythrocytes.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range.

## Specific performance data<sup>16</sup>

The data determined using a Roche/Hitachi system are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

## Precision

Reproducibility was determined using controls and pooled whole blood in an internal protocol (n = 21). The following results were obtained.

Hb	Within run			Between run		
	Mean	CV		Mean	CV	
Sample	g/dL	mmol/L	%	g/dL	mmol/L	%
Precinorm HbA1c	13.5	8.38	0.4	14.0	8.69	1.4
Precipath HbA1c	13.6	8.45	0.5	14.1	8.76	1.4
Whole blood	18.7	11.6	0.6	10.6	6.58	0.9

HbA1c	Within run			Between run		
	Mean	CV		Mean	CV	
Sample	g/dL	mmol/L	%	g/dL	mmol/L	%
Precinorm HbA1c	0.56	0.35	2.3	0.61	0.38	4.3
Precipath HbA1c	1.42	0.88	1.5	1.53	0.95	3.5
Whole blood	1.71	1.06	2.1	0.89	0.55	3.1

%HbA1c	Within run			Between run		
	Mean	CV		Mean	CV	
Sample	g/dL	mmol/L	%	g/dL	mmol/L	%
Precinorm HbA1c	4.1	2.55	2.2	4.4	2.73	4.4
Precipath HbA1c	10.5	6.52	1.8	10.9	6.77	3.0
Whole blood	9.2	5.71	2.3	8.4	5.22	3.2


## Analytical sensitivity (lower detection limit)

HbA1c: 0.2 g/dL (0.124 mmol/L)


Hemoglobin: 0.3 g/dL (0.186 mmol/L)

The detection limit represents the lowest measurable analyte level that can be distinguished from zero. It is calculated as the value lying three standard deviations above that of the lowest standard (standard 1 + 3 SD, within-run precision, n = 21).

## Method comparison

Comparison of the % hemoglobin A1c determination using Roche Tina-quant  HbA1c II with the methods listed below gave the following correlations:

(x) = IFCC reference method

(y) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, IFCC values

Passing/Bablok<sup>24</sup>

$y = 1.009x - 0.03$

$\tau = 0.950$

SD (md 95) = 0.393

Linear regression

$y = 0.979x + 0.14$

$r = 0.955$

$Sy.x = 0.190$

Number of samples measured: 64

The sample concentrations were between 3.3 and 13.5%.

(x) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, IFCC values

(y) = Integra 700 hemolysate application, IFCC values

Passing/Bablok<sup>24</sup>

$y = 1.000x + 0.08$

$\tau = 0.951$

SD (md 95) = 0.349

Linear regression

$y = 0.984x + 0.20$

$r = 0.996$

$Sy.x = 0.18$


Number of samples measured: 62

The sample concentrations were between 3.2 and 13.9%.



# HbA1c II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II

(x) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, DCCT/NGSP values  
(y) = Integra 700 hemolysate application, DCCT/NGSP values

Passing/Bablok <sup>24</sup>	Linear regression
y = 1.000 x + 0.07	y = 0.984 x + 0.21
τ = 0.951	r = 0.996
SD (md 95) = 0.306	Sy,x = 0.16

Number of samples measured: 62  
The sample concentrations were between 5.0 and 14.5%.

## Specificity<sup>16</sup>

No cross-reactivity with HbA0, HbA1a, HbA1b, acetylated hemoglobin, carbamylated hemoglobin, glycated albumin, labile HbA1c and HbA1d was observed for the anti-HbA1c antibodies used in this kit.

## References

- Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JL, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 1995;18:896-909.
- Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care*. 1994;17:938-939.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993; 329:977-986.
- Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1993;42:1549-1554.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) group. Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998, 352, 837-853.
- Flückiger R, Mortensen HB. Review: glycated haemoglobins. *J Chromatogr*. 1988;429:279-292.
- Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem*. 1986;32:B64-B70.
- Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care* 2002, 25, 275-278.
- Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science*. 1978; 200:21-27.
- Karl J et al. Development and Standardization of a New Immunturbidimetric HbA1c Assay. *Klin Lab* 1993;39:991-996.
- Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR 1910.1030). *Federal Register*. July 1, 2001;17:260-273.
- Directive 2000/54/EC). *Official Journal of the European Communities* No. L262, from October 17, 2000.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. The Quality of Diagnostic Samples. Brochure in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*, 2<sup>nd</sup> edition. Darmstadt: GIT Verlag 2001.
- Kobold U, Jeppsson JO, Duellfer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997, 43, 1944-1951.
- Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umemoto M, Weykamp C. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002, 40, 78-89.
- Data on file at Roche Diagnostics.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986, 32, 470-474.
- Greiling H, Gressner AM, eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3<sup>rd</sup> ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:279.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care [Suppl]* 18/1, 1995;8-15.
- Sacks BW, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002,48, 436-472.
- Martina WV, Martijn EG, van der Molen M, Schermer JG, Muskiet FAJ. β-N-terminal glycohemoglobins in subjects with common

hemoglobinopathies: relation with fructosamine and mean erythrocyte age. *Clin Chem*. 1993;39:2259-2265.

- Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem*. 1993;39:1717-1723.
- Junge W, Wilke B, Halabi A et al. Determination of reference intervals in adults for hemoglobin A1c (HbA1c). Poster presentation 18th International Diabetes Federation Congress, Paris, 2003.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

## Instrument settings

If assays are not performed in batch mode (test-oriented), the determination of Hb must be performed immediately before the determination of HbA1c to avoid possible interference by Creatinine-Jaffé. This can be achieved on the Roche/Hitachi 717/747/902 analyzers by assigning these tests to two consecutive channels (e.g. Hb in channel 14 and HbA1c in channel 15). When running large batches of HbA1c it may be necessary to implement a special washing procedure. Please contact your local Roche representative for further details.

## US users

Refer to application sheet for additional operating information.

## Roche/Hitachi 717

If the HbA1c II assay is run in batch mode (test-oriented), rinse the cuvette once weekly (cell-wash) with 0.1 N sodium hydroxide solution.

## Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 and Modular users

Enter the application parameters via the application diskette, settings sheet or barcode sheet, as appropriate.

## Roche/Hitachi 717

Temperature: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS		
	Hemoglobin A1c	Hemoglobin
TEST	[HBA1C]	[HB]
ASSAY CODE	[2(2POINT)]- [24]-[50]	[1(1POINT)]- [24]-[0]
SAMPLE VOLUME (µl)	[10] - [10]	[20] - [20]
R1 VOLUME	[250] - [50] - [NO]	[230] - [50] - [NO]
R1 VOLUME	[50] - [20] - [NO]	[0] - [20] - [NO]
WAVELENGTH	[700] - [340]	[660] - [570]
CALIB. METHOD	[3] - [1] - [5]	[1] - [0] - [0]
STD (1) CONC RACK POS	[0.00] - [ ]	[0.0] - [ ]
STD (2) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
STD (3) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]
STD (4) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]
STD (5) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]
STD (6) CONC RACK POS	[0] - [0]	[0] - [0]
SD LIMIT	[200]	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[350]	[50]
SENSITIVITY LIMIT	[2000]	[250]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0] - [INC]	[0] - [INC]
PROZONE LIMIT	[32000] - [UPPER]	[0] - [UPPER]
EXPECTED VALUES	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
PANIC VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]	[1.00]

— Data entered by the operator



# HBA1C II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II

Roche/Hitachi 747

Temperature: 37°C

Hemoglobin A1c



Hemoglobin

PROGRAM 4.2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[HBA1C]	-	
ASSAY CODE	[2(2POINT)]	-[22]-[50]	
WAVELENGTH	[700(SUB)]	-[340 (MAIN)]	
	<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>	
SAMPLE VOLUME (µl)	[10]	-[5]	[ ] -[ ]
EXPECTED VALUE	[ ]	-[ ]	[ ] -[ ]
PANIC VALUE	[ ]	-[ ]	[ ] -[ ]
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0]	-[INCREASE]	[ ] -[ ]
PROZONE LIMIT	[32000]	-[UPPER]	[ ] -[ ]
	<b>R1</b>	<b>R2</b>	
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]	[50]	
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]	[0]	
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[NONLINEAR]		
POINTS	[5]		
STD 1 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 2 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 3 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 4 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 5 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 6 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
SD LIMIT	[200]		
DUPLICATE LIMIT	[350]		
SENSITIVITY LIMIT	[2000]		
STD 1 ABS. LEVEL	[ ]	-[ ]	
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]		

\_\_\_ Data entered by the operator

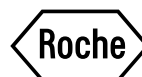
PROGRAM 4.2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[HB]	-	
ASSAY CODE	[1(1POINT)]	-[22]-[0]	
WAVELENGTH	[660(SUB)]	-[570 (MAIN)]	
	<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>	
SAMPLE VOLUME (µl)	[20]	-[20]	[ ] -[ ]
EXPECTED VALUE	[ ]	-[ ]	[ ] -[ ]
PANIC VALUE	[ ]	-[ ]	[ ] -[ ]
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0]	-[INCREASE]	[ ] -[ ]
PROZONE LIMIT	[32000]	-[UPPER]	[ ] -[ ]
	<b>R1</b>	<b>R2</b>	
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]	[0]	
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]	[0]	
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[LINEAR]		
POINTS	[0]		
STD 1 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 2 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 3 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 4 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 5 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
STD 6 CONC RACK POS	[ ]	-[ ]-[ ]	
SD LIMIT	[0.1]		
DUPLICATE LIMIT	[50]		
SENSITIVITY LIMIT	[250]		
STD 1 ABS. LEVEL	[ ]	-[ ]	
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]		




# HBA1C II

Tina-quant® Hemoglobin A1c II

Roche/Hitachi 902



Tina-quant, Precinorm and Precipath are trademarks of a member of the Roche Group.  
Intralipid is a trademark of KabiPharmacia, Inc.  
Significant additions or changes (where present) are indicated by a change bar in the margin.  
© 2004 Roche Diagnostics

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim  
for USA: US Distributor:  
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN  
US Customer Technical Support 1-800-428-2336



No.	<Chemistry>	HbA1c	Hb
1	Test Name	HbA1c	Hb
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End	1 Point
3	Assay Code (2. Test)	0	0
4	Reaction Time	10	10
5	Assay Point 1	17	17
6	Assay Point 2	35	0
7	Assay Point 3	0	0
8	Assay Point 4	0	0
9	Wavelength (SUB)	700	660
10	Wavelength (MAIN)	340	570
11	Sample Volume	10.0	20.0
12	R1 Volume	250	230
13	R1 Pos.	.....	.....
14	R1 Bottle Size	Large	Large
15	R2 Volume	0	0
16	R2 Pos.	0	0
17	R2 Bottle Size	Small	Small
18	R3 Volume	50	0
19	R3 Pos.	.....	0
20	R3 Bottle Size	Small	Small
21	Calib. Type (Type)	Logit-Log(4P)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0	0
23	Calib. Conc. 1	0.00	0.00
24	Calib. Pos. 1	.....	.....
25	Calib. Conc. 2	.....	.....
26	Calib. Pos. 2	.....	.....
27	Calib. Conc. 3	.....	0
28	Calib. Pos. 3	.....	0
29	Calib. Conc. 4	.....	0
30	Calib. Pos. 4	.....	0
31	Calib. Conc. 5	.....	0
32	Calib. Pos. 5	.....	0
33	Calib. Conc. 6	.....	0
34	Calib. Pos. 6	.....	0
35	S1 ABS	0	0
36	K Factor	10000	10000
37	K2 Factor	10000	10000
38	K3 Factor	10000	10000
39	K4 Factor	10000	10000
40	K5 Factor	10000	10000
41	A Factor	0	0
42	B Factor	0	0
43	C Factor	0	0
44	SD Limit	200	0.1
45	Duplicate Limit	350	50
46	Sens. Limit	3000	250
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000	-32000
48	S1 Abs. Limit (H)	32000	32000
49	Abs. Limit	0	0
50	Abs. Limit (D/I)	Increase	Increase
51	Prozone Limit	32000	32000
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Upper	Upper
53	Prozone (Endpoint)	35	35
54	Expect. Value (L)	.....	.....
55	Expect. Value (H)	.....	.....
56	Instr. Fact. (a)	1.0	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0	0.0
58	Key setting	.....	.....

..... Data entered by the operator

For further information please refer to the appropriate operator manual for the analyzer concerned, the respective application sheets, product information and the package inserts of all necessary components.



# HbA1c II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II

Standardisiert nach IFCC; übertragbar auf DCCT/NGSP

## ● Packungsgrößen für Roche/Hitachi-Geräte

Best.- Nr.	Flasche	Inhalt										
			717	747	902	904	911 912	917	MOD P	MOD D		
11822039	1	REAGENT 4 x 17 ml										
	2	REAGENT 4 x 4 ml										
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	•	•	•	•	•	•	•	•		
	4	REAGENT 4 x 17 ml										
11822080	1	REAGENT 2 x 66 ml										
	2	REAGENT 2 x 16 ml										
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml		•					•	•		
	4	REAGENT 2 x 66 ml										
11822098	1	REAGENT 2 x 71 ml										
	2	REAGENT 2 x 17 ml										
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	•	•				•				
	4	REAGENT 2 x 71 ml										
11822497	1	REAGENT 40 x 66 ml										
	2	REAGENT 40 x 16 ml										
	3a-d	CALIBRATOR → 32 x 2 ml		•					•	•		
	4	REAGENT 40 x 66 ml										

Nicht alle Packungen und Geräte sind in jedem Land verfügbar. Für weitere gerätespezifische Arbeitsanleitungen wenden Sie sich bitte an Ihre Roche Diagnostics-Vertretung.

## Deutsch

### Systeminformation

Für Roche/Hitachi 904/911/912: ACN 027, ACN 125, ACN 162, ACN 165.

Für Roche/Hitachi 917/MODULAR P: ACN 027, ACN 125, ACN 802 (US-Code 812), ACN 803 (US-Code 813).

### Anwendungszweck

Immunologischer Test zur quantitativen in vitro Bestimmung von Hämoglobin A1c im Vollblut mit klinisch-chemischen Analysenautomaten von Roche. HbA1c-Bestimmungen werden in der Glykämiezeitkontrolle eingesetzt.

### Zusammenfassung<sup>1-9</sup>

Hämoglobin (Hb) besteht aus vier Proteinketten mit vier Hämanteilen und ist das rot pigmentierte Protein in den Erythrozyten. Seine Hauptfunktion liegt im Transport von Sauerstoff und Kohlendioxid im Blut. Jedes Hb-Molekül kann vier Sauerstoffmoleküle binden. Hb besteht aus einer Vielzahl von Unterfraktionen und Derivaten. Innerhalb dieser heterogenen Gruppe von Hämoglobinen ist HbA1c eines der glykosylierten Hämoglobine, eine Unterfraktion, die durch Anlagerung verschiedener Zucker an das Hämoglobinmolekül gebildet wird. Die Bildung von HbA1c ist ein zweistufiger Prozess, bei dem eine nichtenzymatische Reaktion zwischen Glucose und der N-terminalen Aminogruppe der  $\beta$ -Kette von normalem, adultem Hb (HbA) stattfindet. Der erste Schritt ist reversibel und ergibt instabiles HbA1c. Dieses wird in einem zweiten Schritt langsam in das stabile HbA1c überführt. In den Erythrozyten nimmt der relative HbA-Anteil, der in stabiles HbA1c umgewandelt wird, mit der durchschnittlichen Glucosekonzentration im Blut zu. Die Umwandlung in stabiles HbA1c wird durch die Lebensdauer der Erythrozyten von etwa 100 bis 120 Tagen eingeschränkt. Daher spiegelt HbA1c den durchschnittlichen Blutzuckerspiegel der letzten 2 bis 3 Monate wider. HbA1c ist somit zur langfristigen Blutglucoseüberwachung bei Diabetes mellitus geeignet. Jüngere Glucosespiegel haben einen größeren Einfluss auf die HbA1c-Konzentration.<sup>1</sup>

Die annähernde Beziehung zwischen HbA1c und dem mittleren Blutglucosewert während der letzten 2 bis 3 Monate wurde in mehreren Studien untersucht. In einer kürzlich durchgeführten Studie ergab sich folgende Korrelation:

### DCCT / NGSP Standardisierung<sup>9</sup>

Mittlere Plasmaglucose [mmol/l] = 1,98 x HbA1c (%) - 4,29 oder

Mittlere Plasmaglucose [mg/dl] = 35,6 x HbA1c (%) - 77,3

### IFCC Standardisierung (berechnet gem. Literaturangabe 8)

Mittlere Plasmaglucose [mmol/l] = 1,73 x HbA1c (%) + 0,20 oder

Mittlere Plasmaglucose [mg/dl] = 31,2 x HbA1c (%) + 3,51

Das Risiko diabetischer Komplikationen, wie einer diabetischen Nephropathie und Retinopathie, nimmt bei schlechter Stoffwechseleinstellung zu. Gemäß seiner Funktion als Indikator des mittleren Blutzuckerspiegels ermöglicht HbA1c Aussagen über die Entwicklung diabetischer Komplikationen bei Diabetikern.<sup>3,5</sup> Für die klinische Routine ist ein Test alle 3 bis 4 Monate in der Regel ausreichend. Unter bestimmten klinischen Umständen, wie bei Schwangerschaftsdiabetes oder einer grundlegenden Therapieumstellung, kann eine Messung von HbA1c in Abständen von 2 bis 4 Wochen sinnvoll sein.<sup>7</sup>

### Testprinzip<sup>10</sup>

Diese Methode verwendet TTAB\* als Detergenz im Hämolyse-Reagenz, um Leukozytenstörungen zu eliminieren (TTAB lysiert keine Leukozyten). Eine Vorbehandlung der Proben zur Entfernung von labilem HbA1c ist nicht notwendig.

Alle am N-Terminus der  $\beta$ -Kette glykierten Hämoglobinvarianten, deren vom Antikörper erkannte Region identisch zum HbA1c ist, werden durch diesen Test bestimmt. Somit kann die Stoffwechsellage von Diabetespatienten mit Hämoglobinopathien und Urämie im Gegensatz zur chromatographischen Methode erfasst werden.

### Hämoglobin A1c

Die HbA1c-Bestimmung beruht auf dem turbidimetrischen immunologischen Inhibitionsassay (TINIA) für hämolysiertes Vollblut.

- Probe und Zugabe von R1 (Puffer/Antikörper) Glykohämoglobin (HbA1c) aus der Probe bildet mit dem Anti-HbA1c-Antikörper einen löslichen Antigen-Antikörper-Komplex. Weil die für den HbA1c-Antikörper spezifische Bindungsstelle am HbA1c-Molekül nur einfach vorhanden ist, bilden sich keine komplexeren Strukturen.

- Zugabe von R2 (Puffer/Polyhaptan) und Start der Reaktion: Die Polyhaptene bilden mit überschüssigen Anti-HbA1c-Antikörpern einen unlöslichen Antikörper-Polyhaptan-Komplex, der turbidimetrisch gemessen wird.

### Hämoglobin

Die Hämoglobinkonzentration wird in einem zweiten Kanal bestimmt. Freigesetztes Hämoglobin aus der hämolysierten Probe wird in ein Derivat mit einem charakteristischem Spektrum überführt und anschließend bichromatisch gemessen.

### Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen

#### HbA1c

R1 MES-Puffer<sup>\*\*</sup>: 0,025 mol/l; TRIS-Puffer<sup>\*\*\*</sup>: 0,015 mol/l, pH 6,2; HbA1c-Antikörper (Schafserum):  $\geq 0,5$  mg/ml; Stabilisatoren



# HBA1C II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II

R2 MES-Puffer\*\*: 0,025 mol/l; TRIS-Puffer\*\*\*: 0,015 mol/l, pH 6,2;  
HbA1c-Polyhaptan: ≥ 8 µg/ml; Stabilisatoren  
3a-d Hämolsat aus Humanblut und Schafblut; TTAB\*: 9 g/l; Stabilisator

## Hämoglobin

R1 Phosphatpuffer: 0,02 mol/l, pH 7,4; Stabilisatoren

\* TTAB = Tetradecyltrimethylammoniumbromid

\*\* MES = 2-Morpholinoethansulfonsäure

\*\*\*TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethan

## Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

In vitro Diagnosticum.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Entsorgung aller Abfälle ist gemäß den lokalen Richtlinien durchzuführen. Humanmaterial gilt als potentiell infektiös. Für die Herstellung aller Produkte aus Blut wird nur Blut von Spendern verwendet, bei denen mit von der FDA zugelassenen Tests weder Antikörper gegen HCV und HIV noch HBsAg nachzuweisen sind.

Da keine Testmethode mit absoluter Sicherheit eine potentielle Infektionsgefahr ausschließen kann, sollte das Material mit der gleichen Sorgfalt behandelt werden wie eine Patientenprobe. Im Falle einer Exposition ist entsprechend den Anweisungen der zuständigen Gesundheitsbehörden vorzugehen.<sup>11,12</sup>

Diese Packung enthält Komponenten, die gemäß der europäischen Direktive 88/379/EEC wie folgt klassifiziert sind.

Xi - Reizend (Tetradecyltrimethylammoniumbromid, TTAB), R36/38; S24/25.

Reizt Augen und Haut. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.

Kontakt: Tel.-Nr. +49-621-7590 für alle Länder; Tel.-Nr.

+1-800-428-2336 für USA

Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage für berufsmäßige Benutzer erhältlich.

## Reagenz-Handhabung

HbA1c

R1: Gebrauchsfertig

R2: Gebrauchsfertig

Hämoglobin

R1 (Flasche 4): Gebrauchsfertig

Kalibratoren 3a-d:

Flaschen vorsichtig ohne Verlust von Lyophilisat öffnen. Genau 2,0 ml destilliertes oder entionisiertes Wasser in jede Flasche pipettieren.

Unter Vermeidung von Schaumbildung vorsichtig mischen. Vor Gebrauch 30 Minuten stehen lassen.

## Lagerung und Haltbarkeit

Ungeöffnete Packungsbestandteile: bis zum angegeben

Verfallsdatum bei 2-8°C

HbA1c

R1: offen im Kühlfach des Gerätes 28 Tage

R2: offen im Kühlfach des Gerätes 28 Tage

Hämoglobin

R1: offen im Kühlfach des Gerätes 28 Tage

Kalibratoren: 8 Stunden bei 15-25°C

2 Tage bei 2-8°C

3 Monate bei (-15) - (-25)°C

Zur Weiterverwendung müssen die Kalibratoren nach der Rekonstitution sofort eingefroren werden. Gegebenenfalls portioniert einfrieren.

## Probenentnahme und Vorbereitung

Nur die unten aufgeführten Proben wurden getestet und können verwendet werden.

Kapillar-, EDTA- oder Heparinblut.

Haltbarkeit:<sup>13</sup> 3 Tage bei 15-25°C

7 Tage bei 2-8°C

6 Monate bei (-15) - (-25)°C (nur einmal einfrieren)

## Probenvorbereitung

Kapillarblut

Blut mit einem Einmalkapillarröhrchen entnehmen und das gefüllte Röhrchen in ein Reagenzglas mit der 100-fachen Menge an Hämolyse-Reagenz

geben (z.B. 20 µl-Kapillarröhrchen in 2000 µl Hämolyse-Reagenz).

Reagenzglas verschließen und durch kräftiges Schütteln das Blut aus dem Kapillarröhrchen spülen. Danach durch Verwenden eines Vibrationsmischers oder durch leichtes Schwenken mischen. Nach dem Abklingen der Schaumbildung und dem Farbumschlag von rot auf bräunlichgrün (ca. 1-2 min.) kann das Hämolsat verwendet werden.

Haltbarkeit des Hämolsats: 24 Stunden bei 2-8°C

6 Monate bei (-15) - (-25)°C

Hämolyse-Reagenz vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.

EDTA- oder Heparinblut

Unmittelbar vor der Pipettierung der Probe die Probe gründlich mischen, um eine gleichmäßige Verteilung der Erythrozyten zu erreichen. Schaumbildung vermeiden.

In ein Reagenzglas oder Probengefäß pipettieren:

Hämolyse-Reagenz	1000 µl
EDTA- oder Heparinblut	10 µl

Hämolyse-Reagenz vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.

Unter Verwendung eines Vibrationsmischers oder durch leichtes Schwenken mischen. Schaumbildung vermeiden. Nach dem Farbumschlag von rot auf bräunlichgrün (ca. 1-2 min.) kann das Hämolsat verwendet werden.

Haltbarkeit des Hämolsats: 4 Stunden bei 15-25°C

24 Stunden bei 2-8°C

6 Monate bei (-15) - (-25)°C

## Gelieferte Materialien

• Siehe „Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen“.

## Zusätzlich benötigte Materialien

- Kontrollen: Precinorm HbA1c, Best.-Nr. 11488422 (USA # 1488422); Precipath HbA1c, Best.-Nr. 11488449 (USA # 1488449)
- Hämolyse-Reagenz für HbA1c, Best.-Nr. 11488457 (USA # 1488457)
- NaCl (0,9%)
- Allgemein übliche Laborausrüstung

## Testdurchführung

Um eine einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen, sind die gerätespezifischen Anweisungen zu befolgen. Gerätespezifische Testanweisungen sind im entsprechenden Bedienungshandbuch zu finden. Für Arbeitsanleitungen, die nicht von Roche validiert wurden, wird keine Gewähr übernommen. Sie müssen vom Anwender definiert werden.

## Kalibration

Rückführbarkeit:

Diese Methode wurde gegen die von der IFCC zugelassene Referenzmethode zur Messung von HbA1c in Humanblut standardisiert<sup>14,15</sup> und kann durch Berechnung auf Ergebnisse, die auf DCCT/NGSP rückführbar sind, übertragen werden.

HbA1c

S1: NaCl (0,9%)

S2-5: Kalibratoren 3a-d

Die chargenspezifischen Kalibratorwerte mit zwei Stellen nach dem Komma eingeben.

Hämoglobin

S1: NaCl (0,9%)

S2: Kalibrator 3a

Die chargenspezifischen Kalibratorwerte mit einer Stelle nach dem Komma eingeben.

Die Kalibratoren benötigen keine Vorbehandlung mit dem Hämolyse-Reagenz für HbA1c.

Kalibrationshäufigkeit

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- nach Reagenzchargenwechsel
- nach Küvettenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Kalibrationsverifikation: Nicht erforderlich





# HbA1c II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II



## Qualitätskontrolle

Zur Qualitätskontrolle sind die oben aufgeführten Materialien zu verwenden. Andere geeignete Kontrollen können zusätzlich verwendet werden. Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der definierten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb der Grenzen liegen. Precinorm HbA1c und Precipath HbA1c benötigen keine Vorbehandlung mit dem Hämolyse-Reagenz für HbA1c.

## Berechnung

Protokoll 1 gemäß IFCC

Berechnung der Hämoglobin A1c-Konzentration in Prozent über den HbA1c/Hb-Quotienten, z.B.

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}} \times 100$$

Protokoll 2 gemäß DCCT/NGSP

Berechnung der prozentualen Hämoglobin A1c-Konzentration über die Korrekturformel:

$$\% \text{ HbA1c} = \left( 87,6 \times \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}} \right) + 2,27$$

Diese Formel muss zur automatischen Berechnung am Roche/Hitachi 717 unter PROGRAMM "Calculated TEST", am Roche/Hitachi 902 unter "Testkalkulation", am Roche/Hitachi 911 unter "TESTKALKULATION 04-03", am Roche/Hitachi 912/917 unter "Main/Utility, Calcu Test, Calc" und am Roche/Hitachi MOD P unter "Utility, Calc Test" eingegeben werden.

## Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen<sup>16-22</sup>

- Für diagnostische Zwecke sind die %HbA1c-Werte im Zusammenhang mit den Ergebnissen anderer diagnostischer Verfahren und klinischer Untersuchungen zu werten.
- Der Test dient zur genauen und präzisen Bestimmung von %HbA1c. Die Einzelergebnisse für die Gesamt-Hb- und HbA1c-Konzentration dürfen nicht angegeben werden.
- Dieser Test ist nicht für die Diagnose von Diabetes mellitus oder die Beurteilung von Tagesschwankungen bei der Glucoseeinstellung vorgesehen und darf nicht als Ersatz für die tägliche Selbstkontrolle des Urin- oder Blutglucosespiegels verwendet werden.
- Bei verkürzter Erythrozytenlebensdauer werden diese weniger stark der Glucose ausgesetzt, was selbst dann zu erniedrigten HbA1c (%)-Werten führt, wenn der durchschnittliche Blutglucosespiegel während dieses Zeitraums erhöht war. Ursachen für eine verkürzte Erythrozytenlebensdauer können eine hämolytische Anämie oder andere hämolytische Erkrankungen, homozygot vererbtes Sichelzell-Hb, Schwangerschaft, ein kürzlich erfolgter größerer oder chronischer Blutverlust usw. sein. Die HbA1c-Ergebnisse von Patienten mit diesen Bedingungen sollten unter Vorbehalt ausgewertet werden.

Als Bewertung gilt: Wiederfindung  $\pm 10\%$  vom Ausgangswert.

Icterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis 50 mg/dl bzw. 855  $\mu\text{mol/l}$  konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Konzentration von 800 mg/dl bzw. 9,12 mmol/l Triglyceride. Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Rheumafaktor < 750 IU/ml und Ascorbinsäure < 50 mg/dl (2,84 mmol/l) stören nicht.

In seltenen Fällen kann eine Gammopathie, insbesondere vom Typ IgM (Waldenström-Makroglobulinämie), zu unzuverlässigen Ergebnissen führen. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

## Messbereich<sup>16</sup>

Der Messbereich für HbA1c liegt zwischen 0,3 g/dl (0,124 mmol/l) und der höchsten Standardkonzentration. Dies entspricht bei einer normalen

Hämoglobinkonzentration von 15 g/dl bzw. 9,3 mmol/l einem Messbereich von 2-16% (IFCC-Werte; entsprechende NGSP/DCCT-Werte 4-16%). Da die höchste Standardkonzentration chargenspezifisch ist, sollte dies gegebenenfalls bei den Geräteeinstellungen für die obere Messbereichsgrenze berücksichtigt werden.

Liegt die HbA1c-Konzentration über der höchsten Standardkonzentration, das Hämolyse-Reagenz 1 + 1 oder die Originalprobe im Verhältnis 1 + 200 verdünnen und erneut beide Bestimmungen (HbA1c und Hb) durchführen. Das Ergebnis für %HbA1c kann ohne Umrechnung verwendet werden.

Liegt die HbA1c-Konzentration unter 0,3 g/dl, dann muss die Originalprobe im Verhältnis 1 + 50 mit Hämolyse-Reagenz hämolytisch werden und beide Bestimmungen (HbA1c und Hb) müssen erneut durchgeführt werden. Das Ergebnis für %HbA1c kann ohne Umrechnung verwendet werden.

Messbereich für Hämoglobin: 6-30 g/dl bzw. 3,73-18,6 mmol/l.

## Referenzwerte

Stoffwechselgesunde.

Protokoll 1 (gemäß IFCC):

2,9-4,2% HbA1c<sup>23</sup>

Protokoll 2 (gemäß DCCT/NGSP):

4,8-5,9 % HbA1c<sup>23</sup>

HbA1c-Werte über dem ermittelten Referenzbereich weisen auf eine Hyperglykämie während der letzten 2 bis 3 Monate oder länger hin. Bei schlecht eingestelltem Diabetes sind HbA1c-Spiegel von 20% oder darüber möglich. Ab einem Wert von 8% ist eine Therapie angezeigt. Diabetiker mit einem HbA1c-Spiegel von weniger als 7% entsprechen den Vorgaben der American Diabetes Association.<sup>19,20</sup>

HbA1c-Spiegel unter dem ermittelten Referenzbereich sind ein Anzeichen für kürzliche Hypoglykämie-Episoden, das Vorhandensein von Hb-Varianten oder eine verkürzte Erythrozytenlebensdauer.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

## Spezifische Leistungsdaten des Tests<sup>16</sup>

Nachstehend werden Daten von einem Roche/Hitachi Analysenautomaten angezeigt. Die Ergebnisse des einzelnen Labors können davon abweichen.

## Präzision

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollen und gepooltem Vollblut gemäß einem internen Protokoll (n = 21) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse.

Hb	Präzision in der Serie			Lauf/Lauf		
	MW		VK	MW		VK
	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	13,5	8,38	0,4	14,0	8,69	1,4
Precipath HbA1c	13,6	8,45	0,5	14,1	8,76	1,4
Vollblut	18,7	11,6	0,6	10,6	6,58	0,9

HbA1c	Präzision in der Serie			Lauf/Lauf		
	MW		VK	MW		VK
	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	0,56	0,35	2,3	0,61	0,38	4,3
Precipath HbA1c	1,42	0,88	1,5	1,53	0,95	3,5
Vollblut	1,71	1,06	2,1	0,89	0,55	3,1

%HbA1c	Präzision in der Serie			Lauf/Lauf		
	MW		VK	MW		VK
	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	4,1	2,55	2,2	4,4	2,73	4,4
Precipath HbA1c	10,5	6,52	1,8	10,9	6,77	3,0
Vollblut	9,2	5,71	2,3	8,4	5,22	3,2



# HBA1C II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II




## Analytische Sensitivität (untere Nachweisgrenze)

HbA1c: 0,2 g/dl (0,124 mmol/l)  
Hämoglobin: 0,3 g/dl (0,186 mmol/l)

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Analytkonzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie ist berechnet als die Konzentration, die drei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards liegt (Standard 1 + 3 SD, Präzision in der Serie, n = 21).

## Methodenvergleich

Ein Vergleich der % Hämoglobin A1c-Bestimmung mit Tina-quant  HbA1c II von Roche mit den unten aufgeführten Methoden ergab folgende Korrelationen:

(x) = IFCC-Referenzmethode

(y) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, IFCC-Werte

Passing/Bablok <sup>24</sup>	Lineare Regression
y = 1,009 x - 0,03	y = 0,979 x + 0,14
τ = 0,950	r = 0,955
SD (ma 95) = 0,393	Sy.x = 0,190

Anzahl gemessener Proben: 64

Die Probenkonzentrationen lagen zwischen 3,3 und 13,5%.

(x) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, IFCC-Werte

(y) = Cobas Integra 700 Anwendung im Hämolysat, IFCC-Werte

Passing/Bablok <sup>24</sup>	Lineare Regression
y = 1,000 x + 0,08	y = 0,984 x + 0,20
τ = 0,951	r = 0,996
SD (ma 95) = 0,349	Sy.x = 0,18

Anzahl gemessener Proben: 62

Die Probenkonzentrationen lagen zwischen 3,2 und 13,9%.

(x) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, DCCT/NGSP-Werte

(y) = Cobas Integra 700 Anwendung im Hämolysat, DCCT/NGSP-Werte

Passing/Bablok <sup>24</sup>	Lineare Regression
y = 1,000 x + 0,07	y = 0,984 x + 0,21
τ = 0,951	r = 0,996
SD (ma 95) = 0,306	Sy.x = 0,16

Anzahl gemessener Proben: 62

Die Probenkonzentrationen lagen zwischen 5,0 und 14,5%.

## Spezifität<sup>16</sup>

Für die in dieser Packung verwendeten Anti-HbA1c-Antikörper wurden keine Kreuzreaktionen mit HbA0, HbA1a, HbA1b, acetyliertem Hämoglobin, carbamylisiertem Hämoglobin, glykiertem Albumin, instabilem HbA1c und HbA1d gefunden.

## Literatur

- Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JL, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 1995;18:896-909.
- Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care*. 1994;17:938-939.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993; 329:977-986.
- Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1993;42:1549-1554.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) group. Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998, 352, 837-853.
- Flückiger R, Mortensen HB. Review: glycated haemoglobins. *J Chromatogr*. 1988;429:279-292.
- Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem*. 1986;32:B64-B70.
- Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care* 2002, 25, 275-278.

- Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science*. 1978; 200:21-27.
- Karl J et al. Development and Standardization of a New Immunospectrometric HbA1c Assay. *Klin lab* 1993;39:991-996.
- Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR 1910.1030). *Federal Register*. July 1, 2001;17:260-273.
- Richtlinien des Rates (2000/54/EG). *Abt. d. Europ. Gem. Nr. L262 vom 17.10.2000*
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. The Quality of Diagnostic Samples. Broschüre in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*, 2<sup>nd</sup> edition. Darmstadt: GIT Verlag 2001.
- Kobold U, Jeppsson JO, Duelffer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997, 43, 1944-1951.
- Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umemoto M, Weykamp C. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002, 40, 78-89.
- Dokumentation Roche Diagnostics.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986, 32, 470-474.
- Greiling H, Gressner AM, eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3<sup>rd</sup> ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:279.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care [Suppl]* 18/1, 1995:8-15.
- Sacks BW, Brunts DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002,48, 436-472.
- Martina WV, Martijn EG, van der Molen M, Schermer JG, Muskiet FAJ. β-N-terminal glycohemoglobins in subjects with common hemoglobinopathies: relation with fructosamine and mean erythrocyte age. *Clin Chem*. 1993;39:2259-2265.
- Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem*. 1993;39:1717-1723.
- Junge W, Wilke B, Halabi A et al. Determination of reference intervals in adults for hemoglobin A1c (HbA1c). Poster presentation 18<sup>th</sup> International Diabetes Federation Congress, Paris 2003.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

## Geräteeinstellungen

Sofern die Tests nicht im Batch-Modus (Test-orientiert) durchgeführt werden, muss die Hb-Bestimmung unmittelbar vor der HbA1c-Bestimmung erfolgen, um eine Störung durch Creatinin-Jaffé zu vermeiden. Dies ist an Roche/Hitachi 717/747/902-Geräten durch eine direkt aufeinanderfolgende Kanalbelegung zu erreichen (z.B. Hb in Kanal 14 und HbA1c in Kanal 15). Werden große HbA1c-Serien abgearbeitet, muss eventuell ein spezielles Waschprogramm eingerichtet werden. Bitte wenden Sie sich an Ihre Roche-Vertretung für weitere Informationen.

## US Anwender

Weitergehende Informationen siehe Applikationsblatt.

## Roche/Hitachi 717

Wird der HbA1c II-Test im Batch-Modus (Test-orientiert) gemessen, ist wöchentlich eine Küvettenspülung (Cell-wash) mit 0,1 N Natronlauge durchzuführen.

## Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 und Modular Anwender

Applikationsparameter über die Applikationsdiskette, das Geräteeinstellungsblatt bzw. das Barcodeblatt eingeben.



# HBA1C II

Tina-quant®  Hemoglobin A1c II

Roche/Hitachi 717

Temperatur: 37°C

PROGRAMM 2 CHEMIE PARAMETER			
	Hämoglobin A1c		Hämoglobin
TEST	[HBA1C]		[HB]
MESSMETHODE	[2(2PUNKT)]	[24]-[50]	[1(1PUNKT)] [24]-[0]
PROBEVOLUMEN (µl)	[10] - [10]		[20] - [20]
R1 VOLUMEN	[250] - [50] - [NO]		[230] - [50] - [NO]
R1 VOLUMEN	[50] - [20] - [NO]		[0] - [20] - [NO]
WELLENLAENGEN	[700] - [340]		[660] - [570]
KALIBRATION	[3] - [1] - [5]		[1] - [0] - [0]
STD. (1) KONZ.-POS.	[0.00] - [ ]		[0.0] - [ ]
STD. (2) KONZ.-POS.	[ ] - [ ]		[ ] - [ ]
STD. (3) KONZ.-POS.	[ ] - [ ]		[0] - [0]
STD. (4) KONZ.-POS.	[ ] - [ ]		[0] - [0]
STD. (5) KONZ.-POS.	[ ] - [ ]		[0] - [0]
STD. (6) KONZ.-POS.	[0] - [0]		[0] - [0]
SD GRENZE	[200]		[0.1]
ABWEICHUNGSGRENZE	[350]		[50]
EMPFINDL. GRENZE	[2000]		[250]
EXT. GR. (STEI/FALL)	[0] - [STEI.]		[0] - [STEI.]
PROZONE GRENZE	[32000] - [UEBER]		[0] - [UEBER]
NORMALBEREICH	[ ] - [ ]		[ ] - [ ]
ALARMBEREICH	[ ] - [ ]		[ ] - [ ]
GERAETEFAKTOR	[1.00]		[1.00]

\_\_ Dateneingabe durch den Anwender

Roche/Hitachi 747

Temperatur: 37°C

Hämoglobin A1c

PROGRAMM 4.2 CHEMIE PARAMETER			
TEST	[HBA1C]		-
MESSMETHODE	[2(2PUNKT)]	[22]-[50]	
WELLENLAENGEN	[700(NEBEN)]	[340 (HAUPT)]	
	<b>SERUM</b>		<b>URIN</b>
PROBEVOLUMEN (µl)	[10] - [5]		[ ] - [ ]
NORMALBEREICH	[ ] - [ ]		[ ] - [ ]
ALARMBEREICH	[ ] - [ ]		[ ] - [ ]
EXT. GRENZE (STEI/FALL)	[0] - [STEIGEND]		[ ] - [ ]
PROZONE GRENZE	[32000] - [UEBER]		[ ] - [ ]
	<b>R1</b>		<b>R2</b>
R1/R2 VOLUMEN (µl)	[250]		[50]
R1/R2 DUMMY INTERVALL	[0]		[0]
VERDUENNUNGSVOLUMEN (µl)	[0]		
KALIBRATION	[NICHT LINEAR]		
ANZAHL STAND	[5]		
STD 1 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 2 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 3 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 4 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 5 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 6 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
SD GRENZE	[200]		
ABWEICHUNGSGRENZE	[350]		
EMPFINDL. GRENZE	[2000]		
STD 1 EXT. LEVEL	[ ] - [ ]		
GERAETEFAKTOR	[1.00]		

\_\_ Dateneingabe durch den Anwender

Hämoglobin

PROGRAMM 4.2 CHEMIE PARAMETER			
TEST	[HB]		-
MESSMETHODE	[1(1PUNKT)]	[22]-[0]	
WELLENLAENGEN	[660(NEBEN)]	[570 (HAUPT)]	
	<b>SERUM</b>		<b>URIN</b>
PROBEVOLUMEN (µl)	[20] - [20]		[ ] - [ ]
NORMALBEREICH	[ ] - [ ]		[ ] - [ ]
ALARMBEREICH	[ ] - [ ]		[ ] - [ ]
EXT. GRENZE (STEI/FALL)	[0] - [STEIGEND]		[ ] - [ ]
PROZONE GRENZE	[32000] - [UEBER]		[ ] - [ ]
	<b>R1</b>		<b>R2</b>
R1/R2 VOLUMEN (µl)	[250]		[0]
R1/R2 DUMMY INTERVALL	[0]		[0]
VERDUENNUNGSVOLUMEN (µl)	[0]		
KALIBRATION	[LINEAR]		
ANZAHL STAND	[0]		
STD 1 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 2 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 3 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 4 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 5 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 6 KONZ. RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
SD GRENZE	[0.1]		
ABWEICHUNGSGRENZE	[50]		
EMPFINDL. GRENZE	[250]		
STD 1 EXT. LEVEL	[ ] - [ ]		
GERAETEFAKTOR	[1.00]		




# HBA1C II

Tina-quant® Hemoglobin A1c II

Roche/Hitachi 902



Eventuelle signifikante Ergänzungen oder Änderungen sind durch eine Markierung am Rand gekennzeichnet.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



Zeile	<Eingabe des Parameters>	HbA1c	Hb
1	Test Name	HbA1c	Hb
2	Messmethode	2 Punkt End	1 Punkt
3	Twin	0	0
4	Reaktionszeit	10	10
5	Messpunkt 1	17	17
6	Messpunkt 2	35	0
7	Messpunkt 3	0	0
8	Messpunkt 4	0	0
9	Nebenwellenlänge	700	660
10	Hauptwellenlänge	340	570
11	Probenvolumen	10.0	20.0
12	Volumen R1	250	230
13	Position R1	.....	.....
14	Flaschengröße R1	Gross	Gross
15	Volumen R2	0	0
16	Position R2	0	0
17	Flaschengröße R2	Klein	Klein
18	Volumen R3	50	0
19	Position R3	.....	0
20	Flaschengröße R3	Klein	Klein
21	Kalibrationsart	Logit-Log(4P)	Linear
22	Wichtung	0	0
23	Konz. Standard 1	0.00	0.00
24	Position Standard 1	.....	.....
25	Konz. Standard 2	.....	.....
26	Position Standard 2	.....	.....
27	Konz. Standard 3	.....	0
28	Position Standard 3	.....	0
29	Konz. Standard 4	.....	0
30	Position Standard 4	.....	0
31	Konz. Standard 5	.....	0
32	Position Standard 5	.....	0
33	Konz. Standard 6	.....	0
34	Position Standard 6	.....	0
35	S1 ABS	0	0
36	K Faktor	10000	10000
37	K2 Faktor	10000	10000
38	K3 Faktor	10000	10000
39	K4 Faktor	10000	10000
40	K5 Faktor	10000	10000
41	A Faktor	0	0
42	B Faktor	0	0
43	C Faktor	0	0
44	S-Grenze	200	0.1
45	Abweichungsgrenze	350	50
46	Empfindlichkeits Grenze	3000	250
47	Untere S1 Ext. Grenze	-32000	-32000
48	Obere S1 Ext. Grenze	32000	32000
49	Ext. Grenze	0	0
50	Ext. Grenze fallend/steigend	Steigend	Steigend
51	Prozongrenze Wert	32000	32000
52	Proz. Grenze (unter/ober)	Obere Grenze	Obere Grenze
53	Proz. Grenze (Endpunkt)	35	35
54	Unterer Referenzwert	.....	.....
55	Oberer Referenzwert	.....	.....
56	Instr. Faktor (a)	1.0	1.0
57	Instr. Faktor (b)	0.0	0.0
58	Methodentaste	.....	.....

..... Dateneingabe durch den Anwender

Weitergehende Informationen siehe Bedienungshandbuch des jeweiligen Gerätes, gerätespezifische Applikationsblätter, Produktinformationen und Packungsbeilagen aller erforderlichen Komponenten.



# HbA1c II

Tina-quant® Hémoglobine A1c II

Méthode standardisée selon l'IFCC, transférable à la méthode DCCT/NGSP



● Réactifs utilisables sur les analyseurs Roche/Hitachi suivants :

Réf.	Flacon	Contenu	717	747	902	904	911 912	917	MOD P	MOD D
11822039	1	REAGENT 4 x 17 ml								
	2	REAGENT 4 x 4 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	●	●	●	●	●	●	●	
	4	REAGENT 4 x 17 ml								
11822080	1	REAGENT 2 x 66 ml								
	2	REAGENT 2 x 16 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml		●				●	●	
	4	REAGENT 2 x 66 ml								
11822098	1	REAGENT 2 x 71 ml								
	2	REAGENT 2 x 17 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	●	●			●			
	4	REAGENT 2 x 71 ml								
11822497	1	REAGENT 40 x 66 ml								
	2	REAGENT 40 x 16 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 32 x 2 ml		●				●	●	
	4	REAGENT 40 x 66 ml								

Les analyseurs et les coffrets ne sont pas tous disponibles dans tous les pays. Pour l'utilisation sur d'autres analyseurs, veuillez contacter la société Roche Diagnostics de votre pays.

## Français

### Codes d'application

Pour Roche/Hitachi 904/911/912 : ACN 027, ACN 125, ACN 162, ACN 165  
 Pour Roche/Hitachi 917/MODULAR P: ACN 027, ACN 125, ACN 802  
 (code US 812), ACN 803 (code US 813)

### Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination quantitative *in vitro* de l'hémoglobine A1c dans le sang total à l'aide des analyseurs automatiques de chimie clinique de Roche. Les dosages d'HbA1c sont utilisés dans la surveillance à long terme de la glycémie.

### Généralités<sup>1-9</sup>

L'hémoglobine (Hb) est composée de quatre chaînes protéiques contenant chacune un hème et constitue le pigment rouge qui donne aux érythrocytes leur coloration. Son rôle principal est d'assurer le transport de l'oxygène et du gaz carbonique dans le sang. Chaque molécule d'hémoglobine peut fixer quatre molécules d'oxygène. Il existe plusieurs types et variantes d'hémoglobine. Dans ce groupe hétérogène, l'HbA1c est l'une des variantes d'hémoglobine glyquées résultant de la fixation de différents sucres sur la molécule. L'HbA1c est formée en deux étapes par la fixation non enzymatique du glucose à l'extrémité N-terminale de la chaîne β de l'hémoglobine adulte normale (HbA). La première étape est réversible et conduit à l'HbA1c labile. La deuxième étape consiste en un lent réarrangement qui conduit à l'HbA1c stable. Dans les érythrocytes, le taux relatif d'HbA converti en HbA1c stable augmente avec le taux moyen de glucose dans le sang. La conversion en HbA1c stable est limitée par la durée de vie des érythrocytes, comprise entre env. 100 et 120 jours. De ce fait, l'HbA1c est le reflet de l'équilibre glycémique au cours des 2 à 3 mois précédant le dosage. Le dosage de l'HbA1c est donc une aide précieuse dans la surveillance à long terme de la glycémie chez les sujets présentant un diabète sucré. Les taux de glucose les plus récents influencent davantage les taux d'HbA1c.<sup>1</sup> La relation approximative entre l'HbA1c et le taux moyen de glucose dans le sang au cours des 2 à 3 mois précédant le dosage a été analysée dans plusieurs études. Une étude récente a permis d'obtenir les corrélations suivantes :

#### Standardisation DCCT / NGSP<sup>8</sup>

Glycémie moyenne (plasma) [mmol/l] = 1,98 x HbA1c (%) - 4,29 ou  
 Glycémie moyenne (plasma) [mg/dl] = 35,6 x HbA1c (%) - 77,3

#### Standardisation IFCC (recalculée selon la référence bibliographique 8)

Glycémie moyenne (plasma) [mmol/l] = 1,73 x HbA1c (%) + 0,20 ou  
 Glycémie moyenne (plasma) [mg/dl] = 31,2 x HbA1c (%) + 3,51

Le risque de complications liées au diabète, telles que la néphropathie diabétique ou la rétinopathie augmente si le contrôle du métabolisme est insuffisant. De par son rôle d'indicateur de l'équilibre glycémique, l'HbA1c permet d'annoncer l'apparition de complications chez les sujets diabétiques.<sup>3,5</sup> Pour les suivis de routine, un dosage tous les 3 à 4 mois est généralement suffisant. Dans certains cas cliniques, tels que le diabète gestationnel ou lors de modification importante dans un traitement, il peut être utile de doser l'HbA1c toutes les 2 à 4 semaines.<sup>7</sup>

### Principe<sup>10</sup>

La méthode décrite ci-dessous utilise, dans le réactif hémolytique, le TTAB\* comme détergent; les interférences dues aux leucocytes sont de ce fait éliminées, le TTAB ne provoquant pas de lyse des leucocytes. Un traitement préalable des échantillons pour l'élimination de l'hémoglobine A1c labile n'est pas nécessaire.

Toutes les variantes d'hémoglobine glyquées à l'extrémité N-terminale de la chaîne β qui ont un site antigénique identique à celui que reconnaît l'anticorps dans la molécule d'HbA1c sont également dosées. Cette méthode permet donc aussi, contrairement à la méthode chromatographique, d'apprécier l'état métabolique de patients diabétiques atteints d'hémoglobinopathies et d'urémie. Hémoglobine A1c

Le dosage de l'hémoglobine A1c est un dosage immunoturbidimétrique de type TINIA (turbidimetric inhibition immunoassay) ; il est effectué sur du sang total hémolysé.

- Le réactif R1 (tampon/anticorps) est ajouté à l'échantillon : L'hémoglobine glyquée (HbA1c) contenue dans l'échantillon forme avec les anticorps anti-HbA1c des complexes antigène-anticorps solubles. Comme la molécule d'HbA1c ne présente qu'un seul site de combinaison avec l'anticorps anti-HbA1c, il ne se forme pas de structures complexes.
- Addition de R2 (tampon/polyhaptène) et déclenchement de la réaction : Les polyhaptènes forment avec les anticorps anti-HbA1c en excès des complexes anticorps-polyhaptène insolubles qui sont mesurés par turbidimétrie. Hémoglobine La concentration en hémoglobine est déterminée dans un deuxième canal. Après hémolyse, l'hémoglobine libérée est transformée en un dérivé qui possède un spectre d'absorption caractéristique. La mesure est effectuée à deux longueurs d'onde.

### Réactifs - composition et concentrations

#### HbA1c

R1 Tampon MES\*\* : 0,025 mol/l ; tampon Tris\*\*\* : 0,015 mol/l, pH 6,2 ; anticorps anti-HbA1c (sérum de mouton) : ≥ 0,5 mg/ml ; stabilisateurs



# HbA1c II

Tina-quant® Hémoglobine A1c II



R2 Tampon MES\*\*: 0,025 mol/l ; tampon Tris\*\*\*: 0,015 mol/l, pH 6,2 ; polyhaptène HbA1c :  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$  ; stabilisateurs

3a-d Hémolysats de sang humain et de sang de mouton ; TTAB\*: 9 g/l ; stabilisateur

Hémoglobine

R1 Tampon phosphate : 0,02 mol/l, pH 7,4; stabilisateurs

\* TTAB = bromure de tétradécyltriméthylammonium

\*\* MES = acide morpholino-2 éthanesulfonique

\*\*\* TRIS = tris(hydroxyméthyl) aminométhane

## Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*.

Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire. L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Tous les matériaux d'origine humaine doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Tous les dérivés sanguins utilisés ont été préparés uniquement à partir de sang de donateurs où la recherche de l'antigène HBs et des anticorps anti-VIH et anti-VHC, à l'aide de méthodes approuvées par la FDA, a conduit à un résultat négatif.

Cependant, comme le risque d'infection ne peut être exclu avec certitude par aucune méthode, ce produit doit être traité avec le même soin que les échantillons des patients. En cas d'exposition, suivre les directives de l'autorité compétente en matière de santé.<sup>11,12</sup>

Ce coffret contient parmi ses constituants les substances suivantes classées selon la directive 88/379/CEE :

Xi - Irritant (bromure de tétradécyltriméthylammonium, TTAB), R36/38 ; S24/25.

Irritant pour les yeux et la peau. Eviter le contact avec la peau et les yeux.

Contact tél. : tous pays : +49-621-7590 ; USA : +1-800-428-2336

Fiche de données de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.

## Préparation des réactifs

HbA1c

R1 : Prêt à l'emploi.

R2 : Prêt à l'emploi.

Hémoglobine

R1 (flacon 4) : Prêt à l'emploi.

Calibrateurs 3a-d:

Ouvrir les flacons avec précaution sans perdre de lyophilisat et introduire exactement 2,0 ml d'eau distillée ou d'eau désionisée.

Mélanger avec précaution en évitant la formation de mousse.

Laisser reposer 30 minutes avant emploi.

## Conservation et stabilité

Avant ouverture des flacons : entre 2 et 8°C jusqu'à la date de péremption indiquée

HbA1c

R1 : 28 jours après ouverture et réfrigérés sur l'analyseur

R2 : 28 jours après ouverture et réfrigérés sur l'analyseur

Hémoglobine

R1 : 28 jours après ouverture et réfrigérés sur l'analyseur

Calibrateurs : 8 heures entre 15 et 25°C  
2 jours entre 2 et 8°C  
3 mois entre -15 et -25°C

Les calibrateurs reconstitués doivent être congelés immédiatement s'ils doivent être réutilisés. Congeler en aliquotes si nécessaire.

## Prélèvement et préparation des échantillons

Seuls les échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sang capillaire, sang recueilli sur héparine ou EDTA.

Stabilité :<sup>13</sup> 3 jours entre 15 et 25°C

7 jours entre 2 et 8°C

6 mois entre -15 et -25°C (une seule congélation possible)

## Préparation de l'échantillon

Sang capillaire

Prélever le sang à l'aide d'un tube capillaire à usage unique. Mettre le tube capillaire rempli de sang dans un tube à essais contenant une quantité centuple de réactif hémolytique (par ex. tube capillaire de 20  $\mu\text{l}$  dans 2000  $\mu\text{l}$  de réactif hémolytique). Boucher le tube à essais et agiter vigoureusement pour éluer le sang contenu dans le tube capillaire. Mélanger ensuite, soit à l'aide d'un agitateur à vibration, soit par légère agitation du tube à essais. Après disparition de la mousse formée et virage du rouge au brun-vert (env. 1 à 2 min.), l'hémolysat peut être utilisé pour l'analyse.

Stabilité de l'hémolysat : 24 heures entre 2 et 8°C  
6 mois entre -15 et -25°C

Amener le réactif hémolytique à température ambiante avant emploi.

Sang recueilli sur héparine ou EDTA

Avant de procéder à l'hémolyse, homogénéiser l'échantillon de sang pour avoir une répartition uniforme des érythrocytes. Eviter la formation de mousse.

Introduire dans un tube à essais ou dans un godet échantillon :	
Réactif hémolytique	1000 $\mu\text{l}$
Sang recueilli sur héparine ou EDTA	10 $\mu\text{l}$

Amener le réactif hémolytique à température ambiante avant emploi.

Mélanger soit à l'aide d'un agitateur à vibration, soit par légère agitation du tube à essais. Eviter la formation de mousse. Après disparition de la mousse formée et virage du rouge au brun-vert (env. 1 à 2 min.), l'hémolysat peut être utilisé pour l'analyse.

Stabilité de l'hémolysat : 4 heures entre 15 et 25°C  
24 heures entre 2 et 8°C  
6 mois entre -15 et -25°C

## Matériel fourni

- Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations »

## Matériel auxiliaire nécessaire

- Contrôles : Precinorm HbA1c, Réf. 11488422 (USA # 1488422) ; Precipath HbA1c, Réf. 11488449 (USA # 1488449)
- Réactif hémolytique HbA1c, Réf. 11488457 (USA# 1488457)
- Solution physiologique de chlorure de sodium
- Equipement habituel de laboratoire

## Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Se référer au manuel d'utilisation approprié pour les instructions spécifiques du test.

En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.

## Calibration

Traçabilité :

La méthode a été standardisée par rapport à la méthode de référence pour la détermination de l'HbA1c dans le sang total agréée par l'IFCC<sup>14,15</sup>. Elle peut être transférée à la méthode DCCT/NGSP par le calcul et donner des résultats traçables.

HbA1c

S1 : Solution physiologique de chlorure de sodium

S2-5 : Calibrateurs 3a-d

Entrer les valeurs théoriques avec deux chiffres après la virgule.

Hémoglobine

S1 : Solution physiologique de chlorure de sodium

S2 : Calibrateur 3a

Entrer les valeurs théoriques avec un chiffre après la virgule.

Les calibrateurs 3a-d ne nécessitent pas de prétraitement avec le réactif hémolytique.

Fréquence des calibrations :

Une calibration complète est recommandée :

- en cas de changement de lot de réactif
- en cas de changement de cuves
- si le contrôle de qualité le rend nécessaire

Vérification de la calibration : n'est pas nécessaire.



# HbA1c II

Tina-quant® Hémoglobine A1c II



## Contrôle de qualité

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la liste ci-dessus. D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance.

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

Precinorm HbA1c et Precipath HbA1c ne nécessitent pas de prétraitement avec le réactif hémolytique.

## Calcul des résultats

Protocole 1 selon l'IFCC

Le pourcentage d'hémoglobine A1c s'obtient à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}} \times 100$$

Protocole 2 selon les études DCCT/NGSP

Le pourcentage d'hémoglobine A1c s'obtient à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ HbA1c} = (87,6 \times \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}}) + 2,27$$

Cette formule doit être entrée sur les analyseurs Roche/Hitachi 717 sous Programme 6 « PARAMETRES JOB 6 TESTS CALCULES » ; sur les analyseurs Roche/Hitachi 902, cette formule est à entrer sous « CALC. TEST », sur les analyseurs Roche/Hitachi 911 sous « 04-03 TESTS CALCULES », sur les analyseurs Roche/Hitachi 912/917 sous « MAINT/PROGRAM., TESTS CALCULES, CALC. », et sur les analyseurs Roche/Hitachi MOD P sous « Maint/Prog, Test Calc. ».

## Limites d'utilisation - interférences<sup>16-22</sup>

1. Pour le diagnostic, les taux d'HbA1c (%) doivent toujours être confrontés aux résultats d'autres procédés de diagnostic et d'évaluations cliniques.
2. Le test est conçu uniquement pour la détermination exacte et précise du pourcentage d'HbA1c. Les concentrations d'Hb totale et d'HbA1c obtenues individuellement ne sont pas utilisables.
3. Le test n'est pas destiné au diagnostic du diabète ou à l'appréciation de l'équilibre du diabète au jour le jour et ne peut remplacer les tests quotidiens de détermination du glucose dans l'urine ou le sang réalisés à domicile.
4. Toute diminution de la durée de vie des érythrocytes réduit l'exposition des érythrocytes au glucose et conduit par conséquent à une diminution du pourcentage d'HbA1c même si les taux moyens de glucose dans le sang sont augmentés. Une diminution de la durée de vie des érythrocytes peut être causée par une anémie hémolytique ou d'autres maladies hémolytiques, une anémie falciforme homozygote, une grossesse, une perte importante de sang récente ou chronique, etc. Les taux d'HbA1c obtenus chez les patients concernés doivent être interprétés avec réserve.

Critère d'acceptabilité : recouvrement  $\pm$  10% par rapport à la valeur initiale.

Ictère : pas d'interférence significative de la bilirubine conjuguée et de la bilirubine non conjuguée jusqu'à 50 mg/dl ou 855  $\mu$ mol/l.

Lipémie (Intralipid) : pas d'interférence significative de la lipémie jusqu'à 8 g de triglycérides/l ou 9,12 mmol/l. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides.

Le facteur rhumatoïde < 750 UI/ml et l'acide ascorbique < 50 mg/dl (2,84 mmol/l) ne gênent pas.

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

## Domaine de mesure<sup>16</sup>

Le domaine de mesure de l'hémoglobine A1c s'étend de 0,3 g/dl (0,124 mmol/l) à la concentration la plus élevée de la gamme de standards. Ceci correspond, pour une concentration normale en hémoglobine de 15 g/dl, à un intervalle de mesure compris entre 2 et 16% d'hémoglobine A1c (selon l'IFCC ; intervalle NGSP/DCCT correspondant : 4 à 16%).

Comme la concentration la plus élevée de la gamme de standards est spécifique du lot, il est nécessaire d'en tenir compte, le cas échéant, dans les réglages de l'appareil ayant trait à la limite supérieure du domaine de mesure. Si la concentration en HbA1c est supérieure à la concentration la plus élevée de la gamme de standards, diluer l'hémolysat dans le rapport 1 + 1 à l'aide du réactif hémolytique ou effectuer l'hémolyse dans le rapport 1 + 200 et refaire les deux dosages (HbA1c et Hb). On obtient ainsi directement le pourcentage d'HbA1c de l'échantillon.

Si la concentration en HbA1c est inférieure à 0,3 g/dl, diluer l'échantillon d'origine dans le rapport 1 + 50 à l'aide du réactif hémolytique et refaire les deux dosages (HbA1c et Hb). On obtient ainsi directement le pourcentage d'HbA1c de l'échantillon.

Domaine de mesure de l'hémoglobine : 6-30 g/dl (3,73-18,6 mmol/l)

## Valeurs de référence

Sujets dont le métabolisme est normal

Protocole 1 (selon l'IFCC) :

2,9-4,2% d'HbA1c<sup>23</sup>

Protocole 2 (selon le DCCT/NGSP) : 4,8-5,9 % d'HbA1c<sup>23</sup>

Des taux d'HbA1c situés au-dessus de l'intervalle de référence défini indiquent la présence d'une hyperglycémie au cours des 2 ou 3 mois qui ont précédé le dosage ou depuis plus longtemps. Les taux d'HbA1c peuvent atteindre 20% ou plus si le diabète est mal contrôlé. Des mesures thérapeutiques sont recommandées pour les taux supérieurs à 8%. Selon l'American Diabetes Association, les taux d'HbA1c inférieurs à 7% pour les patients diabétiques sont satisfaisants.<sup>19,20</sup>

Des taux d'HbA1c situés au-dessous des valeurs de référence définies peuvent indiquer de récents épisodes hypoglycémiques, la présence de variantes d'Hb ou une diminution de la durée de vie des érythrocytes.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

## Performances analytiques<sup>16</sup>

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec un analyseur Roche/Hitachi 917. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

## Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide de sérum humain et de contrôles selon un protocole interne (n = 21). Les résultats suivants ont été obtenus :

Hb	Précision intra-série			Précision inter-série		
	Moyenne g/dl	CV mmol/l	CV %	Moyenne g/dl	CV mmol/l	CV %
Precinorm HbA1c	13,5	8,38	0,4	14,0	8,69	1,4
Precipath HbA1c	13,6	8,45	0,5	14,1	8,76	1,4
Sang total	18,7	11,6	0,6	10,6	6,58	0,9

HbA1c	Précision intra-série			Précision inter-série		
	Moyenne g/dl	CV mmol/l	CV %	Moyenne g/dl	CV mmol/l	CV %
Precinorm HbA1c	0,56	0,35	2,3	0,61	0,38	4,3
Precipath HbA1c	1,42	0,88	1,5	1,53	0,95	3,5
Sang total	1,71	1,06	2,1	0,89	0,55	3,1



# HbA1c II

Tina-quant<sup>®</sup>  Hémoglobine A1c II



% HbA1c	Précision intra-série			Précision inter-série		
	Moyenne		CV	Moyenne		CV
Echantillon	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	4,1	2,55	2,2	4,4	2,73	4,4
Precipath HbA1c	10,5	6,52	1,8	10,9	6,77	3,0
Sang total	9,2	5,71	2,3	8,4	5,22	3,2


## Sensibilité analytique (limite inférieure de détection)

HbA1c : 0,2 g/dl (0,124 mmol/l)


Hémoglobine : 0,3 g/dl (0,186 mmol/l)

La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au plus faible taux de la gamme de standards + 3s (standard 1 + 3s, précision intra-série, n = 21).

## Comparaison de méthodes

Une comparaison de la méthode Tina-quant  HbA1c II avec les méthodes indiquées ci-dessous a conduit à l'obtention des corrélations suivantes :

(x) = Méthode de référence IFCC

(y) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valeurs IFCC

Passing/Bablok<sup>24</sup> Régression linéaire

y = 1,009 x - 0,03

y = 0,979 x + 0,14

r = 0,950

r = 0,955

s(md 95) = 0,393

Sy.x = 0,190

Nombre d'échantillons analysés : 64

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 3,3 et 13,5%.

(x) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valeurs IFCC

(y) = Cobas Integra 700 Application dans l'hémolysat, valeurs IFCC

Passing/Bablok<sup>24</sup> Régression linéaire

y = 1 000 x + 0,08

y = 0,984 x + 0,20

r = 0,951

r = 0,996

s(md 95) = 0,349

Sy.x = 0,18

Nombre d'échantillons analysés : 62

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 3,2 et 13,9%.

(x) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valeurs DCCT/NGSP

(y) = Cobas Integra 700 Application dans l'hémolysat, valeurs DCCT/NGSP

Passing/Bablok<sup>24</sup> Régression linéaire

y = 1 000 x + 0,07

y = 0,984 x + 0,21

r = 0,951

r = 0,996

s(md 95) = 0,306

Sy.x = 0,16

Nombre d'échantillons analysés : 62

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 5,0 et 14,5%.

## Spécificité<sup>16</sup>

Les anticorps anti-HbA1c utilisés n'ont pas montré de réactions croisées avec l'HbA0, l'HbA1a, l'HbA1b, l'hémoglobine acétylée, l'hémoglobine carbamylée, l'albumine glyquée, l'HbA1c labile et l'HbA1d.

## Bibliographie

- Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JL, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 1995;18:896-909.
- Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care*. 1994;17:938-939.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329:977-986.
- Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1993;42:1549-1554.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) group. Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998, 352, 837-853.

- Flückiger R, Mortensen HB. Review: glycosylated haemoglobins. *J Chromatogr*. 1988;429:279-292.
- Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM. Glycosylated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem*. 1986;32:B64-B70.
- Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care* 2002;27:275-278.
- Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science*. 1978;200:21-27.
- Karl J et al. Development and Standardization of a New Immunosorbent HbA1c Assay. *Klin Lab* 1993;39:991-996.
- Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR 1910.1030). Federal Register. July 1, 2001;17:260-273.
- Directive du Conseil de l'Europe (2000/54/CEE). Journal Officiel de la Communauté Européenne n° L374 du 17.09.2000.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. The Quality of Diagnostic Samples. Brochure dans: *Samples: From the Patient to the Laboratory*, 2<sup>e</sup> édition. Darmstadt: GIT Verlag, 2001.
- Kobold U, Jeppsson JO, Duelffer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997;43:1944-1951.
- Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umemoto M, Weykamp C. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40:78-89.
- Documentation de Roche Diagnostics
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474.
- Greiling H, Gressner AM, eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3<sup>e</sup> édition. Stuttgart/New York: Schattauer 1995:279.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care [Suppl]* 18/1, 1995:8-15.
- Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Clin Chem* 2002;48, 436-472.
- Martina WV, Martijn EG, van der Molen M, Schermer JG, Muskiet FAJ.  $\beta$ -N-terminal glycohemoglobins in subjects with common hemoglobinopathies: relation with fructosamine and mean erythrocyte age. *Clin Chem*. 1993;39:2259-2265.
- Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Sliik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem*. 1993;39:1717-1723.
- Junge W, Wilke B, Halabi A et al. Determination of reference intervals in adults for hemoglobin A1c (HbA1c). Poster presentation 18th International Diabetes Federation Congress, Paris, 2003.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

## Réglages des appareils

Si les dosages ne sont pas effectués en séries, le dosage de l'hémoglobine [g/dl] doit être effectué immédiatement avant le dosage de l'hémoglobine A1c [g/dl] pour éviter une perturbation du dosage par la créatinine méthode de Jaffé. Sur les analyseurs Roche/Hitachi 717/747/902, attribuer pour cela à ces deux paramètres des canaux consécutifs (par exemple : Hb canal 14 et HbA1c canal 15).

En cas de grosses séries de dosages de l'HbA1c, il peut être nécessaire de programmer un cycle de lavage spécial. Pour plus de détails, veuillez contacter la société distributrice des produits Roche de votre pays.

## Pour les U.S.A.

Pour de plus amples informations, se référer aux fiches techniques spéciales.

## Roche/Hitachi 717

Si les dosages d'hémoglobine A1c sont effectués en séries, les cuves doivent être rincées une fois par semaine à l'aide d'une solution de soude 0,1 N.

## Roche/Hitachi 904/911/912/917 et MODULAR

Saisir les paramètres de programmation figurant sur la disquette, la fiche de réglages ou la fiche de codes-barres.





# HBA1C II

Tina-quant® Hémoglobine A1c II

Roche/Hitachi 717

Température : 37°C



## 2 PROGRAMMATION DES TESTS

Hémoglobine A1c		Hémoglobine
TEST	[HBA1C]	[HB]
CODE REACTION	[2(2POINTS)][24]-[50]	[1(1POINT)]-[24]-[0]
VOLUME ECHAN. (µl)	[10] - [10]	[20] - [20]
VOLUMES REACTIF R1 (µl)	[250] - [50] [NON]	[230] - [50] - [NON]
VOLUMES REACTIF R1 (µl)	[50] - [20] - [NON]	[0] - [20] - [NON]
LONGUEURS D'ONDE (nm)	[700] - [340]	[660] - [570]
TYPE CALIBRATION	[3] - [1] - [5]	[1] - [0] - [0]
ETL. (1) CONC. RACK POS.	[0.00] - [ ]	[0.0] - [ ]
ETL. (2) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
ETL. (3) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]	[0] - [0]
ETL. (4) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]	[0] - [0]
ETL. (5) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]	[0] - [0]
ETL. (6) CONC. RACK POS.	[0] - [0]	[0] - [0]
LIMITE DEV. STAND.	[200]	[0.1]
LIMITE DUPLICAT	[350]	[50]
LIMITE SENSIBILITE	[2000]	[250]
LIMITE D.O. (CINET)	[0] - [CROIT]	[0] - [CROIT]
LIMITE PROZONE	[32000] - [SUPER]	[0] - [SUPER]
VALEURS USUELLES	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
VALEURS D'ALERTE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
FACTEUR INSTRUMENT	[1.00]	[1.00]

\_\_ donnée mise en mémoire par le manipulateur

Roche/Hitachi 747

Température : 37°C

Hémoglobine A1c

## 4.2 PROGRAMMATION DES TESTS

TEST	[HB]	-
CODE REACTION	[1(1POINT)]	- [22]-[0]
LONGUEURS D'ONDE (nm)	[660 (sec.)]	- [570 (princ.)]
D'ONDE (nm)	<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>
VOLUME ECHAN. (µl)	[20] - [20]	[ ] - [ ]
VALEURS USUELLES	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
VALEURS D'ALERTE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
LIMITE D.O. (CR/DECR)	[0] - [CROIS.]	[ ] - [ ]
LIMITE PROZONE	[32000] - [SUPER]	[ ] - [ ]
	<b>R1</b>	<b>R2</b>
VOLUMES REACTIFS (µl)	[250]	[0]
CYCLE D'ANCRAGE	[0]	[0]
VOLUME DE DILUTION	[0]	
TYPE CALIBRATION	[LINEAIRE]	
NBRE POINTS	[0]	
ETL. (1) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (2) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (3) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (4) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (5) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (6) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
LIMITE DEV. STAND.	[0.1]	
LIMITE DUPLICAT	[50]	
LIMITE SENSIBILITE	[250]	
INTERVALLE D.O. ET. 1 LEVEL	[ ] - [ ]	
FACTEUR INSTRUMENT	[1.00]	

## 4.2 PROGRAMMATION DES TESTS

TEST	[HBA1C]	-
CODE REACTION	[2(2POINTS)]	- [22]-[50]
LONGUEURS D'ONDE (nm)	[700 (sec.)]	- [340 (princ.)]
	<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>
VOLUME ECHAN. (µl)	[10] - [5]	[ ] - [ ]
VALEURS USUELLES	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
VALEURS D'ALERTE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
LIMITE D.O. (CR/DECR)	[0] - [CROIS.]	[ ] - [ ]
LIMITE PROZONE	[32000] - [SUPER]	[ ] - [ ]
	<b>R1</b>	<b>R2</b>
VOLUMES REACTIFS (µl)	[250]	[50]
CYCLE D'ANCRAGE	[0]	[0]
VOLUME DE DILUTION	[0]	
TYPE CALIBRATION	[NON LINEAIRE]	
NBRE POINTS	[5]	
ETL. (1) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (2) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (3) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (4) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (5) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
ETL. (6) CONC. RACK POS.	[ ] - [ ]-[ ]	
LIMITE DEV. STAND.	[200]	
LIMITE DUPLICAT	[350]	
LIMITE SENSIBILITE	[2000]	
INTERVALLE D.O. ET. 1 LEVEL	[ ] - [ ]	
FACTEUR INSTRUMENT	[1.00]	

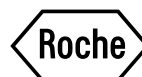
\_\_ donnée mise en mémoire par le manipulateur

Hémoglobine



# HBA1C II

Tina-quant® Hémoglobine A1c II



Roche/Hitachi 902

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



n°	<Paramètre>	HbA1c	Hb
1	Nom test	HbA1c	Hb
2	Code Réaction (Méthode)	Point Final 2	1 Point
3	Code Réaction (2. test)	0	0
4	Temps dosage	10	10
5	1 <sup>e</sup> Point de Mesure	17	17
6	2 <sup>e</sup> Point de Mesure	35	0
7	3 <sup>e</sup> Point de Mesure	0	0
8	4 <sup>e</sup> Point de Mesure	0	0
9	Long. d'Onde (SEC)	700	660
10	Long. d'Onde (PRINC)	340	570
11	Volume Echt	10.0	20.0
12	Volume R1	250	230
13	Pos. R1	.....	.....
14	Taille Flacon R1	Grand	Grand
15	Volume R2	0	0
16	Pos. R2	0	0
17	Taille Flacon R2	Petit	Petit
18	Volume R3	50	0
19	Pos. R3	.....	0
20	Taille Flacon R3	Petit	Petit
21	Calib. Type	Logit-Log(4P)	Linéaire
22	Calib. Calib. (Poids)	0	0
23	Conc. Standard 1	0.00	0.00
24	Pos. Standard 1	.....	.....
25	Conc. Standard 2	.....	.....
26	Pos. Standard 2	.....	.....
27	Conc. Standard 3	.....	0
28	Pos. Standard 3	.....	0
29	Conc. Standard 4	.....	0
30	Pos. Standard 4	.....	0
31	Conc. Standard 5	.....	0
32	Pos. Standard 5	.....	0
33	Conc. Standard 6	.....	0
34	Pos. Standard 6	.....	0
35	DO Std 1	0	0
36	Facteur K	10000	10000
37	Facteur K 2	10000	10000
38	Facteur K 3	10000	10000
39	Facteur K 4	10000	10000
40	Facteur K 5	10000	10000
41	Facteur A	0	0
42	Facteur B	0	0
43	Facteur C	0	0
44	Limite DS	200	0.1
45	Limite Duplication	350	50
46	Limite Sensibilité	3000	250
47	Limite DO Std 1 (Bas)	-32000	-32000
48	Limite DO Std 1 (Haut)	32000	32000
49	Limite DO	0	0
50	Limite DO (D/I)	Croissant	Croissant
51	Limite Prozone	32000	32000
52	Limite Prozone (U/D)	Supérieure	Supérieure
53	Prozone (Point Final)	35	35
54	Valeurs Usuelles (Bas)	.....	.....
55	Valeurs Usuelles (Haut)	.....	.....
56	Facteur Instr. (a)	1.0	1.0
57	Facteur Instr. (b)	0.0	0.0
58	Attribution Touche	.....	.....

..... donnée mise en mémoire par le manipulateur

Pour de plus amples informations, se référer au manuel de l'opérateur de l'analyseur utilisé, aux fiches techniques respectives, au dossier « Product Information » et aux notices d'utilisation de tous les réactifs nécessaires.



# HBA1C II

Prueba Tina-quant® de hemoglobina glucosilada II

Estandarizada según la IFCC, extrapolable a DCCT/NGSP



● Estuche adecuado para el analizador Roche/Hitachi respectivo

Ref.	Frasco	Contenido	717	747	902	904	911 912	917	MOD P	MOD D
11822039	1	REAGENT 4 x 17 ml								
	2	REAGENT 4 x 4 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	●	●	●	●	●	●	●	
	4	REAGENT 4 x 17 ml								
11822080	1	REAGENT 2 x 66 ml								
	2	REAGENT 2 x 16 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml		●				●	●	
	4	REAGENT 2 x 66 ml								
11822098	1	REAGENT 2 x 71 ml								
	2	REAGENT 2 x 17 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	●	●			●			
	4	REAGENT 2 x 71 ml								
11822497	1	REAGENT 40 x 66 ml								
	2	REAGENT 40 x 16 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 32 x 2 ml		●				●	●	
	4	REAGENT 40 x 66 ml								

Algunos estuches y analizadores no están disponibles en todos los países. Para otras metodicas específicas, diríjase al representante de Roche Diagnostics en su país.

## Español

### Información del sistema

Roche/Hitachi 904/911/912: ACN 027, ACN 125, ACN 162, ACN 165.  
Roche/Hitachi 917/MODULAR P: ACN 027, ACN 125, ACN 802 (código EE.UU. 812), ACN 803 (código EE.UU. 813).

### Función

Prueba inmunoturbidimétrica para la determinación cuantitativa in vitro de la hemoglobina A1c en sangre completa en analizadores automáticos Roche de química clínica. Las determinaciones de HBA1c se emplean en el seguimiento a largo plazo de la glucemia.

### Generalidades<sup>1-9</sup>

La hemoglobina (Hb) está formada por cuatro cadenas proteicas con cuatro porciones hemo y constituye la proteína de pigmento rojo de los eritrocitos. Su función principal es el transporte de oxígeno y de dióxido de carbono en la sangre. Cada molécula de Hb es capaz de fijar cuatro moléculas de oxígeno. La Hb consta de una variedad de subfracciones y derivados. Dentro de este heterogéneo grupo, la HbA1c es una de las hemoglobinas glucosiladas, subfracción que se deriva de la unión de varios azúcares a la molécula de Hb. En los adultos normales, la HbA1c se forma en dos pasos por la reacción no enzimática de la glucosa con el grupo amino del nitrógeno terminal de la cadena β en la Hb (HbA). El primer paso es reversible y produce la hemoglobina HbA1c inestable que se reordena lentamente en el segundo paso de la reacción para generar la HbA1c estable. En los eritrocitos, la cantidad relativa de HbA que se transforma en HbA1c estable aumenta paralelamente a la concentración promedio de glucemia. El proceso de formación de la HbA1c estable depende de la vida media de los eritrocitos, de aproximadamente 100 a 120 días. En consecuencia, la concentración de HbA1c determinada refleja el nivel promedio de glucemia en los 2 a 3 meses previos a la medición. Por ello, la determinación de la HbA1c en pacientes con diabetes mellitus es un medio idóneo para el seguimiento de la glucemia a largo plazo. Los niveles de glucosa más recientes influyen primordialmente en el nivel de HbA1c.<sup>1</sup> La relación entre la concentración de HbA1c y el valor medio de glucemia durante los 2 a 3 meses previos ha sido objeto de numerosos estudios. En un estudio reciente se ha obtenido la siguiente correlación:

### Estandarización del DCCT/NGSP<sup>8</sup>

Glucemia media [mmol/l] = 1,98 x HbA1c (%) - 4,29 o bien  
Glucemia media [mg/dl] = 35,6 x HbA1c (%) - 77,3

Estandarización de la IFCC (recalculada según la referencia bibliográfica 8)

Glucemia media [mmol/l] = 1,73 x HbA1c (%) + 0,20 o bien  
Glucemia media [mg/dl] = 31,2 x HbA1c (%) + 3,51

Si el metabolismo del diabético no se controla de forma adecuada, aumenta el riesgo de que sufra complicaciones tales como la nefropatía y la retinopatía diabéticas. La HbA1c indica el nivel medio de la glucemia, proporciona un pronóstico de la evolución de complicaciones diabéticas en pacientes con diabetes.<sup>3,5</sup>

En su empleo clínico de rutina, por lo general basta en realizar la prueba cada 3 ó 4 meses. En ciertas situaciones clínicas, como en la diabetes del embarazo o al modificar el tratamiento de forma relevante, puede ser conveniente medir la HbA1c en intervalos de 2 a 4 semanas.<sup>7</sup>

### Principio del test<sup>10</sup>

El presente método emplea TTAB\* como detergente en el hemolizante para eliminar interferencias por leucocitos, ya que el TTAB no los lisa. No es necesario pretratar las muestras para eliminar la HbA1c inestable.

Este test determina todas las variantes de hemoglobina glucadas en el término N de la cadena β cuya región reconocida por el anticuerpo sea idéntica a la HbA1c. A diferencia del método cromatográfico, esta prueba permite controlar la situación metabólica de diabéticos con hemoglobinopatías y uremia.

### Hemoglobina A1c

La determinación de HbA1c se basa en el ensayo inmunoturbidimétrico de inhibición (TINIA) para sangre completa hemolizada.

- Muestra y adición de R1 (tampón/anticuerpo)  
La glucohemoglobina (HbA1c) de la muestra forma con el anticuerpo anti-HbA1c un complejo antígeno-anticuerpo soluble. Ya que en la molécula HbA1c existe solamente un sitio de fijación específico para el anticuerpo anti-HbA1c, no se forman estructuras más complejas.
- Adición de R2 (tampón/polihapteno) e inicio de la reacción:  
Los polihaptenos forman con los anticuerpos anti-HbA1c excedentes un complejo anticuerpo-polihapteno insoluble que se mide turbidimétricamente.

### Hemoglobina

La concentración de hemoglobina se determina en un segundo canal. La hemoglobina liberada de la muestra hemolizada es transformada a un derivado con un espectro de absorción característico y se mide bicromáticamente.



# HbA1c II

Prueba Tina-quant® de hemoglobina glucosilada II



## Reactivos – Soluciones de trabajo

### HbA1c

- R1 Tampón MES\*\*: 0,025 mol/l; tampón TRIS\*\*\*: 0,015 mol/l, pH 6,2; anticuerpo anti-HbA1c (suero ovino) ≥ 0,5 mg/ml; estabilizadores
- R2 Tampón MES\*\*: 0,025 mol/l; tampón TRIS\*\*\*: 0,015 mol/l, pH 6,2; polihapteno HbA1c: ≥ 8 µg/ml; estabilizadores
- 3a-d Hemolizado de sangre humana y sangre ovina; TTAB\*: 9 g/l; estabilizadores

### Hemoglobina

- R1 Tampón fosfato: 0,02 mol/l, pH 7,4; estabilizadores

\* TTAB = Bromuro de tetradeciltrimetilamonio

\*\* MES = Ácido 2-morfolino etanosulfónico

\*\*\* TRIS = Tris (hidroximetil)-aminometano

## Medidas de precaución y advertencias

Sólo para el uso diagnóstico in vitro.

Observe las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

El material de origen humano debe considerarse como potencialmente infeccioso. Los hemoderivados han sido preparados exclusivamente de sangre de donantes que, según los métodos aprobados por la FDA, no contienen anticuerpos anti-VIH, anti-VHC ni AgHBs.

Dado que nunca puede excluirse con total seguridad el riesgo de infección, se recomienda tratar este producto con el mismo cuidado que una muestra de paciente. En caso de exposición, proceda según las instrucciones de las autoridades sanitarias competentes.<sup>11,12</sup>

Los componentes del presente estuche se clasifican según la directiva europea 88/379/CEE de la siguiente manera:

Xi - Irritante (bromuro de tetradeciltrimetilamonio, TTAB), R36/38; S24/25.

Irrita ojos y piel. Evítense el contacto con los ojos y la piel.

Contacto telefónico: internacional: +49-621-7590, EE.UU.: +1-800-428-2336

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

## Preparación de los reactivos

### HbA1c

R1: El contenido está listo para el uso.

R2: El contenido está listo para el uso.

### Hemoglobina

R1 (frasco 4): El contenido está listo para el uso.

### Calibradores 3a-d:

Abra cada frasco con cuidado, evitando la pérdida de liofilizado.

Pipetear exactamente 2,0 ml de agua destilada o desionizada dentro de cada frasco. Mezclar suavemente, evitando la formación de espuma.

Dejar reposar 30 minutos antes de usar.

## Conservación y estabilidad

Sin abrir, a 2-8°C: hasta la fecha de caducidad indicada.

### HbA1c

R1: abierto y refrigerado en el analizador: 28 días.

R2: abierto y refrigerado en el analizador: 28 días.

### Hemoglobina

R1: abierto y refrigerado en el analizador: 28 días.

Calibradores: A 15-25°C: 8 horas

A 2-8°C: 2 días

A (-15) - (-25)°C: 3 meses

Si se desea volver a usar los calibradores, congélelos inmediatamente tras reconstituírlos. Congelar alícuotas de pequeño tamaño, si fuera necesario.

## Obtención y preparación de las muestras

Sólo se ha analizado y hallado apto el tipo de muestras aquí mencionado.

Sangre capilar, con EDTA o heparinizada.

Estabilidad:<sup>13</sup> A 15-25°C: 3 días

A 2-8°C: 7 días

6 meses a (-15) - (-25)°C (congelar sólo una vez)

## Preparación de la muestra

### Sangre capilar

Extraer la sangre con un tubo capilar desechable y colocarlo entonces en un tubo de ensayo con la cantidad céntupla de hemolizante (p.ej. 20 µl

de sangre capilar en 2000 µl de hemolizante). Cerrar el tubo y quitar la sangre del tubo capilar agitando vigorosamente. A continuación, mezclar mediante un mezclador vibratorio o agitando suavemente. El hemolizado está listo para usar cuando la espuma haya desaparecido y el color haya cambiado de rojo a marrón verdoso (aprox. 1-2 min).

Estabilidad del hemolizado: A 2-8°C: 24 horas

A (-15) - (-25)°C: 6 meses

Antes del uso, atemperar el hemolizante a temperatura ambiente.

Sangre con EDTA o heparinizada.

Antes de pipetear, mezclar bien la muestra hasta alcanzar una distribución homogénea de los eritrocitos. Evitar la formación de espuma.

Pipetear a un tubo de reactivo o de muestra:	
Hemolizante	1000 µl
Sangre con EDTA o heparinizada.	10 µl

Antes del uso, atemperar el hemolizante a temperatura ambiente.

Mezclar en el mezclador vibratorio o agitando ligeramente. Evitar la formación de espuma. El hemolizado está listo para usar cuando la solución haya desaparecido y el color haya cambiado de rojo a marrón verdoso (aprox. 1-2 min).

Estabilidad del hemolizado: 4 horas a 15-25°C

A 2-8°C: 24 horas

A (-15) - (-25)°C: 6 meses

## Material suministrado

- Consultar la sección "Reactivos – Soluciones de trabajo".

## Material requerido adicionalmente (no suministrado)

- Controles: Precinorm HbA1c, Ref. 11488422 (EE.UU. # 1488422), Precipath HbA1c, Ref. 11488449 (EE.UU. # 1488449).
- Hemolizante para HbA1c, Ref. 11488457 (EE.UU. # 1488457)
- NaCl al 0,9%
- Equipo usual de laboratorio

## Realización del ensayo

Para un desempeño óptimo del test, observar las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo.

Roche no se responsabiliza del desempeño de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

## Calibración

Trazabilidad:

El presente método fue estandarizado frente a un método de referencia para la medición de HbA1c en sangre humana aprobado por la IFCC<sup>14,15</sup> y sus resultados pueden extrapolarse mediante cálculo a los resultados obtenidos rastreables al estándar de DCCT/NGSP.

### HbA1c

S1: NaCl al 0,9%

S2 -5: Calibradores 3a-d

Los valores para el calibrador específicos del lote se introducen con dos decimales después de la coma.

### Hemoglobina

S1: NaCl al 0,9%

S2: Calibrador 3a

Los valores para el calibrador específicos del lote se introducen con un decimales después de la coma.

Los calibradores no requieren pretratamiento con el hemolizante de HbA1c.

Frecuencia de calibraciones

Se recomienda efectuar una nueva calibración completa:

- si se cambia de lote de reactivos
- tras cambiar de cubetas
- si así lo requieren los procedimientos de control de calidad

La calibración no requiere verificación.

## Control de calidad

Para el control de la calidad, emplear el material de control indicado más arriba. Asimismo puede emplearse otro material de control apropiado.



# HbA1c II

## Prueba Tina-quant® de hemoglobina glucosilada II



Los intervalos y límites de control deben adaptarse a los requerimientos de cada laboratorio en particular. Los valores deben situarse dentro de los límites establecidos.

Cada laboratorio debería establecer mediciones correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

No es necesario pretratar los controles Precinorm HbA1c y Precipath HbA1c con el hemolizante de HbA1c.

### Cálculo

Protocolo 1 según la IFCC

La concentración porcentual de hemoglobina A1c se calcula a través del cociente entre HbA1c/Hb, como p. ej.:

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}} \times 100$$

Protocolo 2 según DCCT/NGSP

La concentración porcentual de hemoglobina A1c se calcula a través de la fórmula correctiva:

$$\% \text{ HbA1c} = (87,6 \times \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}}) + 2,27$$

Para el cálculo automático, introduzca la fórmula en el analizador Roche/Hitachi 717, bajo PROGRAMA "Calculated TEST"; en el Roche/Hitachi 902, bajo "Test Calculation"; en el Roche/Hitachi 911, bajo "TEST CALCULATION 04-03"; en los Roche/Hitachi 917 y 912, bajo „Main/Utility, Calcu Test, Calc“ y en el Roche/Hitachi MOD P, bajo "Utility, Calc Test".

### Limitaciones – interferencias<sup>16-22</sup>

- Para el diagnóstico, los valores de HbA1c (%) deben emplearse conjuntamente con la información obtenida por otros procedimientos diagnósticos y por evaluaciones clínicas.
- El test está concebido exclusivamente para la medición exacta y precisa de la HbA1c (%). Por ello, los resultados de Hb total y de HbA1c no deben darse a conocer por separado.
- El test no está destinado al diagnóstico de la diabetes mellitus ni al seguimiento diario de la glucosa ni tampoco sustituye el autoanálisis diario de glucemia o glucosuria.
- Cualquiera sea la razón por la cual la vida media de los eritrocitos se acorte, por esta causa su exposición a la glucosa se reduce y los valores de HbA1c (%) disminuyen, aún si el nivel promedio de glucemia en función del tiempo se encuentra elevado. Una reducción de la vida media de los eritrocitos puede deberse, entre otras enfermedades, a la anemia hemolítica u otras enfermedades hemolíticas, a células falciformes de carácter homocigótico, al embarazo, a hemorragias crónicas o recientes de gran magnitud. En estas circunstancias se recomienda interpretar los resultados del test HbA1c con cautela.

Criterio: Recuperación dentro de  $\pm 10\%$  del valor inicial.

Ictericia: Sin interferencias significativas por bilirrubina conjugada y no conjugada hasta aprox. 50 mg/dl o bien 855 mmol/l.

Lipemia (Intralipid): Sin interferencia significativa por triglicéridos hasta aprox. 800 mg/dl o 9,12 mmol/l. No existe una concordancia satisfactoria entre turbidez y concentración de triglicéridos.

Los factores reumatoides < 750 UI/ml y el ácido ascórbico < 50 mg/dl (2,84 mmol/l) no interfieren en el test.

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammapatía, particularmente del tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem).

Con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con el test siempre deben evaluarse junto a la anamnesis del paciente, los exámenes clínicos y los resultados de otros análisis.

### Intervalo de medición<sup>16</sup>

El intervalo de medición del test de HbA1c se halla entre 0,3 g/dl (0,124 mmol/l) y la concentración del estándar más alto. Esto equivale a un intervalo de medición entre el 2-16% de hemoglobina A1c para una

concentración normal de hemoglobina de 15 g/dl ó 9,3 mmol/l (valores de la IFCC, corresponden al 4-16% según el DCCT/NGSP).

Téngase en cuenta al programar el límite superior del intervalo de medición en el analizador que la concentración del estándar más alto es específica del lote. Si la concentración de HbA1c es superior a la concentración del estándar más alto, diluir el hemolizado 1 + 1 (o la muestra original 1 + 200) con hemolizante y repetir las determinaciones de HbA1c y Hb. El resultado porcentual de HbA1c puede emplearse sin conversión.

Si la concentración de HbA1c es inferior a 0,3 g/dl, hemolizar la muestra original 1 + 50 con hemolizante y repetir las determinaciones de HbA1c y Hb. El resultado porcentual de HbA1c puede emplearse sin conversión.

Intervalo de medición para hemoglobina: 6-30 g/dl (3,73-18,6 mmol/l).

### Valores teóricos

Personas de metabolismo sano

Protocolo 1 (de acuerdo con la IFCC):

2,9-4,2% de HbA1c<sup>23</sup>

Protocolo 2 (de acuerdo con DCCT/NGSP):

4,8-5,9 % de HbA1c<sup>23</sup>

Los niveles de HbA1c superiores al intervalo de referencia establecido indican la existencia de una hiperglucemia durante un lapso mínimo de los 2 a 3 meses precedentes. Si la diabetes no está sujeta a un control adecuado, los niveles de HbA1c pueden alcanzar e incluso superar el 20%. Se recomienda la intervención terapéutica a partir de niveles del 8%. Los diabéticos con niveles de HbA1c inferiores al 7% cumplen los objetivos fijados por la Asociación Americana de Diabetes.<sup>19,20</sup>

Los niveles de HbA1c inferiores al intervalo de referencia establecido suelen indicar un episodio reciente de hipoglucemia, la presencia de variantes de Hb o bien la reducción de la vida media de los eritrocitos.

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su colectivo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

### Datos específicos de desempeño del test<sup>16</sup>

Los datos fueron determinados empleando el sistema Roche/Hitachi indicado a continuación. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden variar de estos valores.

### Precisión

La reproducibilidad ha sido determinada mediante controles y una mezcla de sangre completa según un protocolo interno (n = 21).

Se han obtenido los siguientes resultados:

Hb	Intraciclo			Interciclo		
	VM		CV	VM		CV
	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	13,5	8,38	0,4	14,0	8,69	1,4
Precipath HbA1c	13,6	8,45	0,5	14,1	8,76	1,4
Sangre completa	18,7	11,6	0,6	10,6	6,58	0,9

HbA1c	Intraciclo			Interciclo		
	VM		CV	VM		CV
	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	0,56	0,35	2,3	0,61	0,38	4,3
Precipath HbA1c	1,42	0,88	1,5	1,53	0,95	3,5
Sangre completa	1,71	1,06	2,1	0,89	0,55	3,1

%HbA1c	Intraciclo			Interciclo		
	VM		CV	VM		CV
	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	4,1	2,55	2,2	4,4	2,73	4,4



# HBA1C II



## Prueba Tina-quant® de hemoglobina glucosilada II

Precipath HbA1c	10,5	6,52	1,8	10,9	6,77	3,0
Sangre completa	9,2	5,71	2,3	8,4	5,22	3,2

### Sensibilidad analítica (límite inferior de detección)

HbA1c: 0,2 g/dl (0,124 mmol/l)  
Hemoglobina: 0,3 g/dl (0,186 mmol/l)

El límite de detección equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado a tres desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (estándar 1 + 3 DE, precisión intraciclo, n = 21).

### Comparación de método

La comparación entre la determinación porcentual de hemoglobina A1c con el reactivo Tina-quant HbA1c II de Roche con los métodos mencionados a continuación ha dado las correlaciones siguientes:

(x) = método de referencia de la IFCC

(y) = Tina-quant HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valores según la IFCC

Passing/Bablok<sup>24</sup> Regresión lineal  
y = 1,009 x - 0,03 y = 0,979 x + 0,14  
τ = 0,950 r = 0,955  
DE (dm 95) = 0,393 Sy.x = 0,190

Cantidad de muestras medidas: 64

Concentración de las muestras: entre 3,3 y 13,5%

(x) = Tina-quant HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valores según la IFCC

(y) = Aplicación para hemolizados, Cobas Integra 700, valores según IFCC

Passing/Bablok<sup>24</sup> Regresión lineal  
y = 1,000 x + 0,08 y = 0,984 x + 0,20  
τ = 0,951 r = 0,996  
DE (dm 95) = 0,349 Sy.x = 0,18

Cantidad de muestras medidas: 62

Concentración de las muestras: entre 3,2 y 13,9%

(x) = Tina-quant HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valores según DCCT/NGSP

(y) = Aplicación para hemolizados, Cobas Integra 700, valores según DCCT/NGSP

Passing/Bablok<sup>24</sup> Regresión lineal  
y = 1,000 x + 0,07 y = 0,984 x + 0,21  
τ = 0,951 r = 0,996  
DE (dm 95) = 0,306 Sy.x = 0,16

Cantidad de muestras medidas: 62

Concentración de las muestras: entre 5,0 y 14,5%

### Especificidad<sup>16</sup>

Para los anticuerpos anti-HbA1c empleados en este estuche no se han encontrado reacciones cruzadas con HbA0, HbA1a, HbA1b, hemoglobina acetilada, hemoglobina carbamylada, albúmina glicada, HbA1c lábil ni HbA1d.

### Referencias bibliográficas

1. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JL, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 1995;18:896-909.
2. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care*. 1994;17:938-939.
3. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329:977-986.
4. Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1993;42:1549-1554.
5. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) group. Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837-853.
6. Flückiger R, Mortensen HB. Review: glycated haemoglobins. *J Chromatogr*. 1988;429:279-292.
7. Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem*. 1986;32:B64-B70.

8. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care* 2002; 25, 275-278.
9. Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science*. 1978; 200:21-27.
10. Karl J et al. Development and Standardization of a New Immunoturbidimetric HbA1c Assay. *Klin Lab* 1993;39:991-996.
11. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR 1910.1030). *Federal Register*. July 1, 2001; 17:260-273.
12. Directiva del Consejo (2000/54/CE). *Diario oficial de las Comunidades Europeas*, N° L262 del 17/10/2000.
13. Guder WG, Narayanan S, Wissner H, Zawta B. The Quality of Diagnostic Samples. Folleto en: *Samples: From the patient to the Laboratory*, 2<sup>nd</sup> edition. Darmstadt: GIT Verlag 2001.
14. Kobold U, Jeppsson JO, Duelffer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997;43:1944-1951.
15. Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umemoto M, Weykamp C. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40, 78-89.
16. Documentación de Roche Diagnostics.
17. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474.
18. Greiling H, Gressner AM, eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3<sup>rd</sup> ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:279.
19. American Diabetes Association. Standards of Medical Care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* [Suppl] 18/1, 1995;8-15.
20. Sacks BW, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002;48, 436-472.
21. Martina WV, Martijn EG, van der Molen M, Schermer JG, Muskiet FAJ. β-N-terminal glycohemoglobins in subjects with common hemoglobinopathies: relation with fructosamine and mean erythrocyte age. *Clin Chem*. 1993;39:2259-2265.
22. Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem*. 1993;39:1717-1723.
23. Junge W, Wilke B, Halabi A et al. Determination of reference intervals in adults for hemoglobin A1c (HbA1c). Poster presentation 18<sup>th</sup> International Diabetes Federation Congress, Paris 2003.
24. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.



# HBA1C II

Prueba Tina-quant® de hemoglobina glucosilada II



## Programación del analizador

Si el análisis no se efectúa en lote (dependiendo del test), la determinación de Hb debe realizarse inmediatamente antes de la determinación de HbA1c para evitar posibles interferencias por el test de la creatinina Jaffé. En los analizadores Roche/Hitachi 717/747/902 esto se consigue otorgando a los tests dos canales consecutivos (p.ej. Hb en el canal 14 y HbA1c en el canal 15). Si se opera con lotes de HbA1c de grandes dimensiones, será necesario implementar un procedimiento especial de lavado. Para más detalles, sírvase contactar a su representante local de Roche.

## Usuarios estadounidenses

Sírvase consultar la información operativa adicional en la ficha de aplicación.

## Roche/Hitachi 717

Si el test HbA1c II se analiza por lotes (según test), lavar las cubetas (cell-wash) una vez por semana con lejía de sosa a 0,1N.

## Usuarios de los Roche/Hitachi 904/911/912/917 y MODULAR

Introducir los parámetros de aplicación del disquete de aplicación, del código de barras o de la hoja de programación, según corresponda.

## Roche/Hitachi 717

Temperatura: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS		
	Hemoglobina A1c	Hemoglobina
TEST	[HBA1C]	[HB]
ASSAY CODE	[2(2POINT)] - [24]-[50]	[1(1POINT)] - [24]-[0]
SAMPLE VOLUME (µl)	[10] - [10]	[20] - [20]
R1 VOLUME	[250] - [50] - [NO]	[230] - [50] - [NO]
R1 VOLUME	[50] - [20] - [NO]	[0] - [20] - [NO]
WAVELENGTH	[700] - [340]	[660] - [570]
CALIB. METHOD	[3] - [1] - [5]	[1] - [0] - [0]
STD (1) CONC RACK POS	[0.00] - [ ]	[0.0] - [ ]
STD (2) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
STD (3) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]
STD (4) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]
STD (5) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]
STD (6) CONC RACK POS	[0] - [0]	[0] - [0]
SD LIMIT	[200]	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[350]	[50]
SENSITIVITY LIMIT	[2000]	[250]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0] - [INC]	[0] - [INC]
PROZONE LIMIT	[32000] - [UPPER]	[0] - [UPPER]
EXPECTED VALUES	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
PANIC VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]	[1.00]

\_\_ a introducir por el operador

## Roche/Hitachi 747

Temperatura: 37°C

Hemoglobina A1c

PROGRAM 4,2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[HBA1C]	-	
ASSAY CODE	[2(2POINT)]	- [22]-[50]	
WAVELENGTH	[700(SUB)]	- [340 (MAIN)]	
		<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>
SAMPLE VOLUME (µl)	[10]	- [5]	[ ] - [ ]
EXPECTED VALUE	[ ]	- [ ]	[ ] - [ ]
PANIC VALUE	[ ]	- [ ]	[ ] - [ ]
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0]	- [INCREASE]	[ ] - [ ]
PROZONE LIMIT	[32000]	- [UPPER]	[ ] - [ ]
		<b>R1</b>	<b>R2</b>
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]		[50]
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]		[0]
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[NONLINEAR]		
POINTS	[5]		
STD 1 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 2 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 3 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 4 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 5 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 6 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
SD LIMIT	[200]		
DUPLICATE LIMIT	[350]		
SENSITIVITY LIMIT	[2000]		
STD 1 ABS. LEVEL	[ ]	- [ ]	
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]		

\_\_ a introducir por el operador

Hemoglobina

PROGRAM 4,2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[HB]	-	
ASSAY CODE	[1(1POINT)]	- [22]-[0]	
WAVELENGTH	[660(SUB)]	- [570 (MAIN)]	
		<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>
SAMPLE VOLUME (µl)	[20]	- [20]	[ ] - [ ]
EXPECTED VALUE	[ ]	- [ ]	[ ] - [ ]
PANIC VALUE	[ ]	- [ ]	[ ] - [ ]
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0]	- [INCREASE]	[ ] - [ ]
PROZONE LIMIT	[32000]	- [UPPER]	[ ] - [ ]
		<b>R1</b>	<b>R2</b>
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]		[0]
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]		[0]
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[LINEAR]		
POINTS	[0]		
STD 1 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 2 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 3 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 4 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 5 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
STD 6 CONC RACK POS	[ ]	- [ ]-[ ]	
SD LIMIT	[0.1]		
DUPLICATE LIMIT	[50]		
SENSITIVITY LIMIT	[250]		
STD 1 ABS. LEVEL	[ ]	- [ ]	
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]		




# HBA1C II

Prueba Tina-quant® de hemoglobina glucosilada II  
Roche/Hitachi 902



La barra del margen indica cambios o suplementos significativos.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



No.	<Chemistry>	HbA1c	Hb
1	Test Name	HbA1c	Hb
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End	1 Point
3	Assay Code (2. Test)	0	0
4	Reaction Time	10	10
5	Assay Point 1	17	17
6	Assay Point 2	35	0
7	Assay Point 3	0	0
8	Assay Point 4	0	0
9	Wavelength (SUB)	700	660
10	Wavelength (MAIN)	340	570
11	Sample Volume	10.0	20.0
12	R1 Volume	250	230
13	R1 Pos.	.....	.....
14	R1 Bottle Size	Large	Large
15	R2 Volume	0	0
16	R2 Pos.	0	0
17	R2 Bottle Size	Small	Small
18	R3 Volume	50	0
19	R3 Pos.	.....	0
20	R3 Bottle Size	Small	Small
21	Calib. Type (Type)	Logit-Log(4P)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0	0
23	Calib. Conc. 1	0.00	0.00
24	Calib. Pos. 1	.....	.....
25	Calib. Conc. 2	.....	.....
26	Calib. Pos. 2	.....	.....
27	Calib. Conc. 3	.....	0
28	Calib. Pos. 3	.....	0
29	Calib. Conc. 4	.....	0
30	Calib. Pos. 4	.....	0
31	Calib. Conc. 5	.....	0
32	Calib. Pos. 5	.....	0
33	Calib. Conc. 6	.....	0
34	Calib. Pos. 6	.....	0
35	S1 ABS	0	0
36	K Factor	10000	10000
37	K2 Factor	10000	10000
38	K3 Factor	10000	10000
39	K4 Factor	10000	10000
40	K5 Factor	10000	10000
41	A Factor	0	0
42	B Factor	0	0
43	C Factor	0	0
44	SD Limit	200	0.1
45	Duplicate Limit	350	50
46	Sens. Limit	3000	250
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000	-32000
48	S1 Abs. Limit (H)	32000	32000
49	Abs. Limit	0	0
50	Abs. Limit (D/I)	Increase	Increase
51	Prozone Limit	32000	32000
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Upper	Upper
53	Prozone (Endpoint)	35	35
54	Expect. Value (L)	.....	.....
55	Expect. Value (H)	.....	.....
56	Instr. Fact. (a)	1.0	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0	0.0
58	Key setting	.....	.....

..... a introducir por el operador

Para más información acerca de los componentes necesarios, sírvase consultar el manual del operador del analizador correspondiente, las fichas de aplicación respectivas, la información de producto y las metódicas.





# HbA1c II

Tina-quant® Emoglobina A1c II



Standardizzato secondo l'IFCC; applicabile al DCCT/NGSP

● Indica gli strumenti Roche/Hitachi su cui le confezioni possono essere usate

Art. n.	Flacone	Contenuto	717	747	902	904	911 912	917	MOD P	MOD D
11822039	1	REAGENT 4 x 17 ml								
	2	REAGENT 4 x 4 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	●	●	●	●	●	●	●	
	4	REAGENT 4 x 17 ml								
11822080	1	REAGENT 2 x 66 ml								
	2	REAGENT 2 x 16 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml		●				●	●	
	4	REAGENT 2 x 66 ml								
11822098	1	REAGENT 2 x 71 ml								
	2	REAGENT 2 x 17 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	●	●			●			
	4	REAGENT 2 x 71 ml								
11822497	1	REAGENT 40 x 66 ml								
	2	REAGENT 40 x 16 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 32 x 2 ml		●				●	●	
	4	REAGENT 40 x 66 ml								

Alcuni analizzatori e alcune confezioni indicati non sono disponibili in tutti i paesi. Per ulteriori informazioni relative agli strumenti, rivolgersi alla propria rappresentanza di Roche Diagnostics.

## Italiano

### Informazioni riguardo al sistema

Per Roche/Hitachi 904/911/912: ACN 027, ACN 125, ACN 162, ACN 165.

Per Roche/Hitachi 917/MODULAR P: ACN 027, ACN 125, ACN 802

(codice USA: 812), ACN 803 (codice USA: 813).

### Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione quantitativa in vitro dell'emoglobina A1c nel sangue intero, impiegando analizzatori automatici di chimica clinica di Roche. Le determinazioni dell'HbA1c vengono impiegate per il monitoraggio a lungo termine della glicemia.

### Sommario<sup>1-9</sup>

L'emoglobina (Hb) è costituita da quattro catene proteiche con quattro gruppi eme ed è la proteina pigmentata di rosso localizzata negli eritrociti. La sua funzione principale consiste nel trasporto di ossigeno e di biossido di carbonio nel sangue. Ogni molecola di Hb è in grado di legare quattro molecole di ossigeno. L'Hb comprende numerose sottofrazioni e derivati diversi. In questo gruppo eterogeneo di emoglobine, l'HbA1c è una delle emoglobine glicate, una sottofrazione formata dall'aggregazione di vari zuccheri alla molecola Hb. L'HbA1c si forma in due fasi, attraverso la reazione non enzimatica del glucosio con l'aminogruppo N-terminale della catena β dell'Hb dell'adulto normale (HbA). La prima fase è reversibile e rilascia HbA1c labile, che lentamente si riorganizza nella seconda fase della reazione formando HbA1c stabile. Negli eritrociti la quantità relativa di HbA convertita in HbA1c stabile aumenta con la concentrazione media di glucosio nel sangue. La conversione in HbA1c stabile viene limitata dalla durata della vita dell'eritrocita, corrispondente a circa 100-120 giorni. Di conseguenza, l'HbA1c riflette il livello medio del glucosio nel sangue durante i 2-3 mesi precedenti. L'HbA1c quindi si rivela utile per eseguire il controllo a lungo termine del glucosio nel sangue in pazienti affetti da diabete mellito. Livelli di glucosio più recenti influiscono maggiormente sul livello di HbA1c.<sup>1</sup>

La relazione approssimativa tra HbA1c e valore medio del glucosio nel sangue nei 2-3 mesi precedenti è stata analizzata in vari studi. In uno studio recente si è ottenuta la seguente correlazione:

Standardizzazione secondo il DCCT/NGSP<sup>8</sup>

Glucosio medio nel plasma [mmol/l] = 1,98 x HbA1c (%) - 4,29; oppure

Glucosio medio nel plasma [mg/dl] = 35,6 x HbA1c (%) - 77,3

Standardizzazione secondo l'IFCC (ricalcolata secondo il riferimento di letteratura n° 8)

Glucosio medio nel plasma [mmol/l] = 1,73 x HbA1c (%) + 0,20; oppure

Glucosio medio nel plasma [mg/dl] = 31,2 x HbA1c (%) + 3,51

Il rischio di complicanze dovute al diabete, quali nefropatia e retinopatia diabetiche, aumenta in assenza di regolari controlli del metabolismo.

L'HbA1c è un indice del livello medio del glucosio nel sangue, e come tale è in grado di preannunciare il rischio dell'insorgenza di complicanze diabetiche nei pazienti affetti da diabete.<sup>3,5</sup>

Per l'uso clinico di routine, di solito è sufficiente eseguire l'analisi ogni 3-4 mesi. Ma in certe situazioni cliniche, ad esempio diabete in gravidanza, o in seguito ad una modifica rilevante nella terapia, può essere utile misurare l'HbA1c ad intervalli di 2-4 settimane.<sup>7</sup>

### Principio del test<sup>10</sup>

Il presente metodo impiega il TTAB\* come detergente nel reattivo emolizzante per eliminare interferenze da leucociti (i leucociti non vengono lisati dal TTAB). Non è necessario un pretrattamento dei campioni per l'eliminazione dell'HbA1c labile.

Tutte le varianti dell'emoglobina glicate all'N-terminale della catena β, le cui regioni riconoscibili dall'anticorpo sono identiche a quella dell'HbA1c, vengono determinate con questo test. Contrariamente ai metodi cromatografici, in tal modo è, quindi, possibile rilevare la situazione metabolica di pazienti diabetici con emoglobinopatie o con uremia.

### Emoglobina A1c

La determinazione dell'HbA1c è basata sul test immunologico turbidimetrico d'inibizione (TINIA) per il sangue intero emolizzato.

- Campione e aggiunta di R1 (tampono/anticorpo)  
La glicemoglobina (HbA1c) del campione reagisce con l'anticorpo anti-HbA1c, formando complessi antigene-anticorpo solubili. Poiché è presente un solo sito di legame specifico per l'anticorpo anti-HbA1c sulla molecola di HbA1c, non si formano strutture complesse.

- Aggiunta di R2 (tampono/poliaptene) ed inizio della reazione:  
I poliaptene reagiscono con gli anticorpi anti-HbA1c eccedenti, formando un complesso anticorpo-poliaptene insolubile, che può essere misurato turbidimetricamente.

### Emoglobina

La concentrazione di emoglobina viene determinata in un secondo canale. L'emoglobina rilasciata dal campione emolizzato viene convertita in un derivato dotato di uno spettro di assorbimento caratteristico, che viene misurato bicromaticamente.



# HbA1c II

Tina-quant® Emoglobina A1c II



## Reattivi – soluzioni pronte all'uso

### HbA1c

- R1 Tampone MES<sup>\*\*</sup>: 0,025 mol/l; tampone TRIS<sup>\*\*\*</sup>: 0,015 mol/l, pH 6,2; anticorpo anti-HbA1c (siero ovino): ≥ 0,5 mg/ml; stabilizzanti
- R2 Tampone MES<sup>\*\*</sup>: 0,025 mol/l; tampone TRIS<sup>\*\*\*</sup>: 0,015 mol/l, pH 6,2; HbA1c-poliaptene: ≥ 8 µg/ml; stabilizzanti
- 3a-d Emolisato derivato da sangue umano e ovino; TTAB<sup>\*</sup>: 9 g/l; stabilizzante

### Emoglobina

- R1 Tampone fosfato: 0,02 mol/l, pH 7,4; stabilizzante

\* TTAB = bromuro di tetradeciltrimetilammonio

\*\* MES = acido 2-morfolino-etansolfonico

\*\*\* TRIS = tris(idrossimetil)-aminometano

## Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico in vitro.

Osservare le precauzioni normalmente adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali. Tutto il materiale umano deve essere considerato come potenzialmente infettivo. Per la preparazione di tutti i prodotti emoderivati viene utilizzato solo sangue di donatori che sono stati testati individualmente e risultati negativi, con i tests approvati dall'FDA, per la ricerca di HBsAg e di anticorpi anti-HCV e anti-HIV.

Poiché non è comunque possibile escludere con sicurezza il pericolo di infezione con nessun metodo di test, è necessario manipolare il materiale con le stesse precauzioni adottate per i campioni prelevati dai pazienti. Nel caso di una esposizione, si deve procedere secondo le specifiche indicazioni sanitarie.<sup>11,12</sup>

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo la Direttiva Europea 88/379/CEE, come segue:

Xi – Irritante (bromuro di tetradeciltrimetilammonio, TTAB) R 36/38; S 24/25.

Irritante per gli occhi e la pelle. Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle.

Contatto telefonico: per tutti i paesi: +49-621-7590,

per gli USA: +1-800-428-2336

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

## Utilizzo dei reattivi

### HbA1c

R1: pronto all'uso

R2: pronto all'uso

### Emoglobina

R1 (flacone 4): pronto all'uso

Calibratori 3a-d:

Aprire ogni flacone con cautela, evitando la perdita di liofilizzato.

Pipettare esattamente 2,0 ml di acqua distillata o deionizzata in ogni flacone. Mescolare leggermente, evitando la formazione di schiuma.

Lasciar riposare per 30 minuti prima dell'uso.

## Conservazione e stabilità

Componenti della confezione integri: a 2–8°C fino alla data di scadenza indicata

### HbA1c

R1: 28 giorni aperto e refrigerato sullo strumento

R2: 28 giorni aperto e refrigerato sullo strumento

### Emoglobina

R1: 28 giorni aperto e refrigerato sullo strumento

Calibratori: 8 ore a 15–25°C

2 giorni a 2–8°C

3 mesi a (-15)–(-25)°C

Per un uso successivo, congelare i calibratori direttamente dopo la ricostituzione, suddividendoli in aliquote separate se necessario.

## Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione indicati sotto sono stati testati e risultati accettabili.

Sangue capillare, sangue trattato con EDTA o eparina

Stabilità:<sup>13</sup> 3 giorni a 15–25°C

7 giorni a 2–8°C

6 mesi a (-15)–(-25)°C (congelare solo 1 volta)

## Preparazione dei campioni

### Sangue capillare

Prelevare il campione di sangue con un tubo capillare monouso e porre il tubo pieno in una provetta con una quantità di reattivo emolizzante 100 volte superiore (ad es. 20 µl di sangue capillare in 2000 µl di reattivo emolizzante). Chiudere la provetta ed eliminare il sangue dal tubo capillare agitando forte. Poi mescolare la soluzione agitando leggermente o su un agitatore a vibrazione. Si può utilizzare l'emolisato dopo la scomparsa della schiuma ed il cambiamento di colore della soluzione da rosso a verde-bruno (ca. 1–2 min).

Stabilità dell'emolisato: 24 ore a 2–8°C

6 mesi a (-15)–(-25)°C

Prima dell'uso portare il reattivo emolizzante a temperatura ambiente.

### Sangue trattato con EDTA o eparina

Direttamente prima del pipettaggio, mescolare bene il campione per ottenere una distribuzione omogenea degli eritrociti. Evitare la formazione di schiuma.

Pipettare in una provetta o nel contenitore del campione:	
Reattivo emolizzante	1000 µl
Sangue trattato con EDTA o eparina	10 µl

Prima dell'uso portare il reattivo emolizzante a temperatura ambiente.

Mescolare su un agitatore a vibrazione o agitando leggermente. Evitare la formazione di schiuma. Si può utilizzare l'emolisato dopo il cambiamento di colore della soluzione da rosso a verde-bruno (ca. 1–2 min).

Stabilità dell'emolisato: 4 ore a 15–25°C

24 ore a 2–8°C

6 mesi a (-15)–(-25)°C

## Materiali a disposizione

- Per i reattivi e calibratori, vedi la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

## Materiali necessari (ma non forniti)

- Controlli: Precinorm HbA1c, Art. n. 11488422 (USA # 1488422); Precipath HbA1c, Art. n. 11488449 (USA # 1488449).
- Reattivo emolizzante per l'HbA1c, Art. n. 11488457 (USA # 1488457)
- NaCl (0,9%)
- Normale equipaggiamento da laboratorio

## Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione.

Per istruzioni sull'esecuzione del test specifiche per l'analizzatore, consultare il manuale d'uso del relativo strumento.

Roche non risponde della performance delle applicazioni non validate da Roche; questa deve quindi essere definita dall'utilizzatore.

## Calibrazione

### Tracciabilità:

Questo metodo è stato standardizzato contro il metodo di riferimento dell'IFCC approvato per la misurazione dell'HbA1c nel sangue umano<sup>14,15</sup> e può essere applicato, attraverso un calcolo, ai risultati tracciabili al DCCT/NGSP.

### HbA1c

S1: NaCl (0,9%)

S2–5: Calibratori 3a–d

Introdurre i valori dei calibratori lotto-specifici con due decimali.

### Emoglobina

S1: NaCl (0,9%)

S2: Calibratore 3a

Introdurre i valori dei calibratori lotto-specifici con un decimale.

Non è necessario pretrattare i calibratori con il reattivo emolizzante per l'HbA1c.

### Frequenza di calibrazione

Si consiglia di eseguire una calibrazione completa

- a cambio del lotto di reattivo
- a cambio di cuvette
- se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità

Verifica della calibrazione: non necessaria.



# HBA1C II

Tina-quant® Emoglobina A1c II



## Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare i materiali di controllo indicati sopra. Inoltre, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato. Gli intervalli e limiti di controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti. Non è necessario pretrattare Precinorm HbA1c e Precipath HbA1c con il reattivo emolizzante per l'HbA1c.

## Calcolo

Protocollo 1 secondo l'IFCC

Il calcolo della concentrazione di emoglobina A1c in percento viene effettuato per mezzo del quoziente HbA1c/Hb, ad es.

$$\text{HbA1c (\%)} = \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}} \times 100$$

Protocollo 2 secondo il DCCT/NGSP

Il calcolo della concentrazione di emoglobina A1c in percento viene effettuato per mezzo della formula di correzione:

$$\text{HbA1c (\%)} = (87,6 \times \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}}) + 2,27$$

Per il calcolo automatico, introdurre questa equazione sotto PROGRAM "Calculated TEST" su Roche/Hitachi 717, sotto "Test Calculation" su Roche/Hitachi 902, sotto "TEST CALCULATION 04-03" su Roche/Hitachi 911, sotto "Main/Utility, Calcu Test, Calc" su Roche/Hitachi 912/917 e sotto "Utility, Calc Test" su Roche/Hitachi MOD P.

## Limiti del metodo – interferenze<sup>16-22</sup>

1. Ai fini diagnostici, i valori di HbA1c (%) devono essere utilizzati congiuntamente con i dati ottenuti con altri procedimenti diagnostici e valutazioni cliniche.
2. Il test è stato realizzato esclusivamente per ottenere misurazioni accurate e precise dell'HbA1c (%). I risultati singoli relativi alle concentrazioni di Hb totale e di HbA1c non devono essere riportati.
3. Il test non deve essere utilizzato per la diagnosi del diabete mellito o per la valutazione giornaliera di controllo del glucosio, né sostituire il test domiciliare giornaliero del glucosio nell'urina o nel sangue.
4. Se, per qualsiasi ragione, la durata di vita degli eritrociti si riduce, diminuisce anche la durata dell'esposizione degli eritrociti al glucosio, con il conseguente calo dei valori dell'HbA1c (%). Ciò avviene anche quando si riscontrano livelli elevati, in un tempo medio, di glucosio nel sangue. Gli stati che provocano la riduzione della durata di vita degli eritrociti possono essere anemia emolitica o altre patologie emolitiche, tratti dell'anemia falciforme in omozigoti, gravidanza, perdite di sangue croniche oppure recenti e significative, e altro. I valori di HbA1c devono essere interpretati con cautela se si tratta di pazienti con tali condizioni.

Valutazione: recupero entro  $\pm 10\%$  del valore iniziale.

Ictero: Nessuna interferenza significativa fino a 50 mg/dl oppure 855  $\mu\text{mol/l}$  (bilirubina coniugata e non coniugata).

Lipemia (Intralipid): nessuna interferenza significativa fino ad una concentrazione di trigliceridi di 800 mg/dl oppure 9,12 mmol/l. Non esiste una buona correlazione tra la torbidità e le concentrazioni di trigliceridi. Fattori reumatoidi < 750 IU/ml e acido ascorbico < 50 mg/dl (2,84 mmol/l) non interferiscono.

In casi molto rari, la gammopatia, particolarmente di tipo IgM (macroglubulinemia di Waldenström), può provocare risultati inaffidabili.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altri riscontri della visita.

## Intervallo di misura<sup>16</sup>

L'intervallo di misura per l'HbA1c è compreso tra 0,3 g/dl (0,124 mmol/l) e la concentrazione dello standard più alto. Ad una concentrazione di emoglobina normale di 15 g/dl oppure 9,3 mmol/l, ciò corrisponde ad un intervallo di misura del 2–16% di emoglobina A1c (valori dell'IFCC; valori dell'NGSP/DCCT corrispondenti: 4–16%).

Poiché la concentrazione dello standard più alto è specifica del lotto, ciò dovrebbe essere eventualmente considerato, nell'ambito della regolazione degli strumenti, per il limite superiore dell'intervallo di misura.

Se la concentrazione di HbA1c è superiore alla concentrazione dello standard più alto, diluire l'emolisato nel rapporto 1 + 1 (o il campione originale nel rapporto 1 + 200) con reattivo emolizzante e ripetere entrambe le determinazioni (dell'HbA1c e dell'Hb). Il risultato di HbA1c (%) può essere utilizzato senza alcun fattore di conversione.

Se la concentrazione di HbA1c è inferiore a 0,3 g/dl, il campione originale va diluito nel rapporto 1 + 50 con reattivo emolizzante, ed entrambe le determinazioni (dell'HbA1c e dell'Hb) vanno ripetute. Il risultato di HbA1c (%) può essere utilizzato senza alcun fattore di conversione.

Intervallo di misura per l'emoglobina: 6–30 g/dl (3,73–18,6 mmol/l).

## Valori di riferimento

Pazienti metabolicamente sani.

Protocollo 1 (secondo l'IFCC):

2,9–4,2% di HbA1c<sup>23</sup>

Protocollo 2 (secondo il DCCT/NGSP):

4,8–5,9 % di HbA1c.<sup>23</sup>

Livelli di HbA1c superiori all'intervallo di riferimento stabilito rappresentano un indice di iperglicemia nei 2–3 o più mesi precedenti. I livelli di HbA1c possono essere del 20% o maggiori in casi di diabete trascurato. L'azione terapeutica va intrapresa quando si riscontrano livelli superiori all'8%. I pazienti diabetici con livelli di HbA1c inferiori al 7% soddisfano i criteri dell'American Diabetes Association (Associazione americana per il diabete).<sup>19,20</sup>

Livelli di HbA1c inferiori all'intervallo di riferimento stabilito possono essere un'indicazione di casi recenti di ipoglicemia, di presenza delle varianti dell'Hb o di riduzioni nella durata di vita degli eritrociti.

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

## Dati specifici sulla performance del test<sup>16</sup>

Qui di seguito sono riportati i dati delle prestazioni su un analizzatore Roche/Hitachi. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

## Precisione

La riproducibilità è stata determinata usando controlli e pool di sangue intero, eseguiti in base ad un protocollo interno (n = 21), con i seguenti risultati:

Hb	Nella serie			Fra le serie		
	Media	CV		Media	CV	
Campione	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	13,5	8,38	0,4	14,0	8,69	1,4
Precipath HbA1c	13,6	8,45	0,5	14,1	8,76	1,4
Sangue intero	18,7	11,6	0,6	10,6	6,58	0,9

HbA1c	Nella serie			Fra le serie		
	Media	CV		Media	CV	
Campione	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	0,56	0,35	2,3	0,61	0,38	4,3
Precipath HbA1c	1,42	0,88	1,5	1,53	0,95	3,5
Sangue intero	1,71	1,06	2,1	0,89	0,55	3,1

HbA1c (%)	Nella serie			Fra le serie		
	Media	CV		Media	CV	
Campione	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	4,1	2,55	2,2	4,4	2,73	4,4
Precipath HbA1c	10,5	6,52	1,8	10,9	6,77	3,0
Sangue intero	9,2	5,71	2,3	8,4	5,22	3,2





# HBA1C II

Tina-quant®  Emoglobina A1c II



## Regolazione degli strumenti

Se i tests non vengono eseguiti nel modo batch (orientato al test), eseguire la determinazione dell'Hb immediatamente prima di quella dell'HbA1c, al fine di evitare un'eventuale interferenza da Creatinina-Jaffé. Programmare quindi, sugli analizzatori Hitachi 717/747/902, l'assegnazione dei canali per tali tests in modo sequenziale (ad es. Hb in canale 14 e HbA1c in canale 15).

Quando si determinano grandi batch di HbA1c, può essere necessario applicare un procedimento di lavaggio speciale. Per ulteriori informazioni, rivolgersi alla propria rappresentanza di Roche.

## Utilizzatori negli USA

Per ulteriori informazioni relative allo strumento, consultare il foglio di applicazione.

## Roche/Hitachi 717

Se il test HbA1c II viene eseguito nel modo batch (orientato al test), va eseguito un lavaggio della cuvetta (cell-wash) ogni settimana con soluzione di idrossido di sodio (0,1 N).

## Utilizzatori di Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 e MODULAR

Introdurre i parametri di applicazione nello strumento mediante il dischetto di applicazione o i codici a barre riportati sul relativo foglio, oppure digitando i valori indicati sul foglio contenente le rispettive regolazioni degli strumenti.

## Roche/Hitachi 717

Temperatura: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS		Emoglobina	
	Emoglobina A1c		Emoglobina
TEST	[HBA1C]		[HB]
ASSAY CODE	[2(2POINT)] - [24]-[50]	[1(1POINT)] - [24]-[0]	
SAMPLE VOLUME (µl)	[10] - [10]	[20] - [20]	
R1 VOLUME	[250] - [50] - [NO]	[230] - [50] - [NO]	
R1 VOLUME	[50] - [20] - [NO]	[0] - [20] - [NO]	
WAVELENGTH	[700] - [340]	[660] - [570]	
CALIB. METHOD	[3] - [1] - [5]	[1] - [0] - [0]	
STD (1) CONC RACK POS	[0.00] - [ ]	[0.0] - [ ]	
STD (2) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
STD (3) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]	
STD (4) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]	
STD (5) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]	
STD (6) CONC RACK POS	[0] - [0]	[0] - [0]	
SD LIMIT	[200]	[0.1]	
DUPLICATE LIMIT	[350]	[50]	
SENSITIVITY LIMIT	[2000]	[250]	
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0] - [INC]	[0] - [INC]	
PROZONE LIMIT	[32000] - [UPPER]	[0] - [UPPER]	
EXPECTED VALUES	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
PANIC VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]	[1.00]	

\_\_ Dati da introdurre dall'utilizzatore

## Roche/Hitachi 747

Temperatura: 37°C

Emoglobina A1c

PROGRAM 4.2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[HBA1C]	-	
ASSAY CODE	[2(2POINT)] - [22]-[50]		
WAVELENGTH	[700(SUB)] - [340 (MAIN)]		
		<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>
SAMPLE VOLUME (µl)	[10] - [5]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
EXPECTED VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
PANIC VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0] - [INCREASE]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
PROZONE LIMIT	[32000] - [UPPER]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
		<b>R1</b>	<b>R2</b>
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]	[50]	[0]
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]	[0]	[0]
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[NONLINEAR]		
POINTS	[5]		
STD 1 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 2 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 3 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 4 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 5 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 6 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
SD LIMIT	[200]		
DUPLICATE LIMIT	[350]		
SENSITIVITY LIMIT	[2000]		
STD 1 ABS. LEVEL	[ ] - [ ]		
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]		


\_\_ Dati da introdurre dall'utilizzatore

Emoglobina

PROGRAM 4.2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[HB]	-	
ASSAY CODE	[1(1POINT)] - [22]-[0]		
WAVELENGTH	[660(SUB)] - [570 (MAIN)]		
		<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>
SAMPLE VOLUME (µl)	[20] - [20]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
EXPECTED VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
PANIC VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0] - [INCREASE]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
PROZONE LIMIT	[32000] - [UPPER]	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]
		<b>R1</b>	<b>R2</b>
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]	[0]	[0]
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]	[0]	[0]
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[LINEAR]		
POINTS	[0]		
STD 1 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 2 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 3 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 4 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 5 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
STD 6 CONC RACK POS	[ ] - [ ] - [ ]		
SD LIMIT	[0.1]		
DUPLICATE LIMIT	[50]		
SENSITIVITY LIMIT	[250]		
STD 1 ABS. LEVEL	[ ] - [ ]		
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]		



# HBA1C II

Tina-quant<sup>®</sup>  Emoglobina A1c II

Roche/Hitachi 902




Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore, i rispettivi fogli di applicazione, la Product Information e le metodiche di tutti i componenti necessari.

No.	<Chemistry>	HbA1c	Hb
1	Test Name	HbA1c	Hb
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End	1 Point
3	Assay Code (2. Test)	0	0
4	Reaction Time	10	10
5	Assay Point 1	17	17
6	Assay Point 2	35	0
7	Assay Point 3	0	0
8	Assay Point 4	0	0
9	Wavelength (SUB)	700	660
10	Wavelength (MAIN)	340	570
11	Sample Volume	10.0	20.0
12	R1 Volume	250	230
13	R1 Pos.	.....	.....
14	R1 Bottle Size	Large	Large
15	R2 Volume	0	0
16	R2 Pos.	0	0
17	R2 Bottle Size	Small	Small
18	R3 Volume	50	0
19	R3 Pos.	.....	0
20	R3 Bottle Size	Small	Small
21	Calib. Type (Type)	Logit-Log(4P)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0	0
23	Calib. Conc. 1	0.00	0.00
24	Calib. Pos. 1	.....	.....
25	Calib. Conc. 2	.....	.....
26	Calib. Pos. 2	.....	.....
27	Calib. Conc. 3	.....	0
28	Calib. Pos. 3	.....	0
29	Calib. Conc. 4	.....	0
30	Calib. Pos. 4	.....	0
31	Calib. Conc. 5	.....	0
32	Calib. Pos. 5	.....	0
33	Calib. Conc. 6	.....	0
34	Calib. Pos. 6	.....	0
35	S1 ABS	0	0
36	K Factor	10000	10000
37	K2 Factor	10000	10000
38	K3 Factor	10000	10000
39	K4 Factor	10000	10000
40	K5 Factor	10000	10000
41	A Factor	0	0
42	B Factor	0	0
43	C Factor	0	0
44	SD Limit	200	0.1
45	Duplicate Limit	350	50
46	Sens. Limit	3000	250
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000	-32000
48	S1 Abs. Limit (H)	32000	32000
49	Abs. Limit	0	0
50	Abs. Limit (D/I)	Increase	Increase
51	Prozone Limit	32000	32000
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Upper	Upper
53	Prozone (Endpoint)	35	35
54	Expect. Value (L)	.....	.....
55	Expect. Value (H)	.....	.....
56	Instr. Fact. (a)	1.0	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0	0.0
58	Key setting	.....	.....

..... Dati da introdurre dall'utilizzatore

Le aggiunte o modifiche significative (eventualmente presenti) sono indicate mediante una linea verticale posizionata in margine.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



# HBA1C II

Tina-quant®  Hemoglobina A1c II

Padronizado de acordo com a IFCC; extrapolável a DCCT/NGSP

● Indica os analisadores Roche/Hitachi nos quais os dispositivos podem ser utilizados

Ref.	Frasco	Conteúdo	717	747	902	904	911 912	917	MOD P	MOD D
11822039	1	REAGENT 4 x 17 ml								
	2	REAGENT 4 x 4 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	●	●	●	●	●	●	●	
	4	REAGENT 4 x 17 ml								
11822080	1	REAGENT 2 x 66 ml								
	2	REAGENT 2 x 16 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml		●				●	●	
	4	REAGENT 2 x 66 ml								
11822098	1	REAGENT 2 x 71 ml								
	2	REAGENT 2 x 17 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 4 x 2 ml	●	●			●			
	4	REAGENT 2 x 71 ml								
11822497	1	REAGENT 40 x 66 ml								
	2	REAGENT 40 x 16 ml								
	3a-d	CALIBRATOR → 32 x 2 ml		●				●	●	
	4	REAGENT 40 x 66 ml								

Alguns dos analisadores e dispositivos podem não ser comercializados em todos os países. Para aplicações de sistema adicionais, contacte o seu representante local da Roche Diagnostics.

## Português

### Informações do sistema

Roche/Hitachi 904/911/912: ACN 027, ACN 125, ACN 162, ACN 165.  
Para Roche/Hitachi 917/MODULAR P: ACN 027, ACN 125, ACN 802 (código EUA 812), ACN 803 (código EUA 813).

### Função

Teste imunoturbidimétrico para a determinação quantitativa in vitro da hemoglobina A1c em sangue total utilizando analisadores automáticos de química clínica da Roche. As determinações de HbA1c são utilizadas na monitorização a longo prazo da glicemia.

### Características<sup>1-9</sup>

A hemoglobina (Hb) é constituída por 4 cadeias de proteínas com 4 fracções heme, e é a proteína de pigmento vermelho localizada nos eritrócitos. A sua função principal é o transporte de oxigénio e de dióxido de carbono no sangue. Cada molécula de Hb é capaz de fixar 4 moléculas de oxigénio. A Hb é constituída por uma variedade de subfracções e derivados. Entre este grupo heterogéneo de hemoglobinas HbA1c está uma das hemoglobinas glicadas, uma subfracção formada pela ligação de vários açúcares à molécula de Hb. A HbA1c forma-se em 2 passos, através da reacção não enzimática da glicose com o grupo amino terminal N da cadeia β da hemoglobina normal (HbA). O 1º passo é reversível e produz HbA1c lábil. Este facto é lentamente alterado no 2º passo da reacção, de forma a produzir HbA1c estável. Nos eritrócitos, a quantidade relativa de HbA convertida em HbA1c estável aumenta com a concentração média de glicose no sangue. A conversão para HbA1c estável é limitada pelo tempo de vida dos eritrócitos, que é de cerca de 100 a 120 dias. Como consequência, a HbA1c reflecte o nível médio de glicose no sangue nos 2 a 3 meses precedentes. A HbA1c é, assim, adequada para monitorizar o controlo da glicose no sangue a longo prazo em indivíduos com diabetes mellitus. Os níveis mais recentes de glicose têm maior influência no nível de HbA1c.<sup>1</sup> A relação aproximada entre a HbA1c e o valor médio de glicose no sangue durante os 2 a 3 meses precedentes foi analisada em vários estudos. Num estudo recente obteve-se a seguinte correlação:

### Padronização DCCT / NGSP<sup>8</sup>

Glicose plasmática média [mmol/l] = 1,98 x HbA1c (%) - 4,29 ou  
Glicose plasmática média [mg/dl] = 35,6 x HbA1c (%) - 77,3

### Padronização IFCC (recalculada de acordo com Ref. 8)

Glicose plasmática média [mmol/l] = 1,73 x HbA1c (%) + 0,20 ou  
Glicose plasmática média [mg/dl] = 31,2 x HbA1c (%) + 3,51

O risco de complicações diabéticas, como a nefropatia e a retinopatia diabética, aumenta quando o controlo metabólico é fraco. De acordo com a sua função de indicador do nível médio de glicose no sangue, a HbA1c permite prever o desenvolvimento de complicações diabéticas em doentes diabéticos.<sup>3,5</sup> Na utilização clínica de rotina, é normalmente suficiente efectuar a análise a cada 3 ou 4 meses. Em algumas situações clínicas, como a diabetes da gravidez ou após uma alteração importante da terapêutica, pode ser útil medir a HbA1c a intervalos de 2 a 4 semanas.<sup>7</sup>

### Princípio do teste<sup>10</sup>

Este método utiliza TTAB\* como detergente no reagente hemolisante para eliminar a interferência dos leucócitos (o TTAB não faz a lise dos leucócitos). Não é necessário proceder ao pré-tratamento da amostra para remover a HbA1c lábil.

Todas as variantes de hemoglobina que são glicadas no terminal N da cadeia β e que apresentam regiões reconhecíveis por anticorpos idênticas às da HbA1c são determinadas com este ensaio. Assim, ao contrário do que acontece com os métodos cromatográficos, o estado metabólico dos doentes diabéticos que apresentam hemoglobinopatias ou uremia pode ser determinado com o presente ensaio.

### Hemoglobina A1c

A determinação da HbA1c baseia-se no imunoenensaio de inibição turbidimétrica (TINIA) de sangue total hemolisado.

- Amostra e adição do R1 (tampão/anticorpo)  
A glicohemoglobina (HbA1c) da amostra reage com o anticorpo anti-HbA1c e forma complexos antígeno-anticorpo solúveis. Como o local do anticorpo anti-HbA1c específico só está presente uma vez na molécula de HbA1c, a formação do complexo não tem lugar.

- Adição de R2 (tampão/polihapteno) e início da reacção:

Os polihaptenos reagem com o excesso de anticorpos anti-HbA1c, formando um complexo anticorpo-polihapteno insolúvel que pode ser determinado turbidimetricamente.

### Hemoglobina

A concentração de hemoglobina é determinada num 2º canal. A hemoglobina libertada na amostra hemolisada é convertida num derivado que tem um espectro de absorção característico que é medido bicromaticamente.

### Reagentes – soluções de trabalho

#### HbA1c

- R1 Tampão MES\*: 0,025 mol/l; Tampão TRIS\*\*\*: 0,015 mol/l, pH 6,2; anticorpo anti-HbA1c (soro ovino) ≥ 0,5 mg/ml; estabilizantes
- R2 Tampão MES\*: 0,025 mol/l; Tampão TRIS\*\*\*: 0,015 mol/l, pH 6,2; polihapteno HbA1c: ≥ 8 µg/ml; estabilizantes



# HBA1C II

Tina-quant®  Hemoglobina A1c II

3a-d Hemolisado derivado de sangue humano e sangue ovino;  
TTAB\*: 9 g/l; estabilizador

Hemoglobina

R1 Tampão fosfato: 0,02 mmol/l, pH 7,4; estabilizantes

\* TTAB = Brometo de tetradeciltrimetilamónio

\*\* MES = Ácido 2-morfolinoetano sulfónico

\*\*\* TRIS = Tris(hidroximetil)-aminometano

## Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Todo o material de origem humana deve ser considerado potencialmente infeccioso. Todos os produtos derivados de sangue foram preparados exclusivamente com sangue de doadores testados individualmente e que, segundo os métodos aprovados pela FDA, estão isentos de HBsAg e de anticorpos para o HCV e HIV.

No entanto, como nenhum método pode excluir com total segurança o risco de potencial infecção, o material deve ser manipulado com o mesmo cuidado que é utilizado no caso das amostras dos pacientes. Em caso de exposição, cumpra as instruções das autoridades de saúde competentes.<sup>11,12</sup>

Este dispositivo contém preparações que estão classificadas da seguinte forma, de acordo com a directiva europeia 88/379/CEE:

Xi - Irritante (brometo de tetradeciltrimetilamónio, TTAB), R36/38; S24/25. Irritante para os olhos e a pele. Evitar o contacto com a pele e os olhos.

Contacto telefónico: todos os países: +49-621-7590, EUA: +1-800-428-2336

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

## Preparação dos reagentes

HbA1c

R1: Pronto a ser utilizado

R2: Pronto a ser utilizado

Hemoglobina

R1 (frasco 4): Pronto a ser utilizado

Calibradores 3a-d:

Abra o frasco cuidadosamente, evitando a perda de liofilizado. pipete exactamente 3,0 ml de água destilada ou desionizada para cada frasco. Homogeneize bem, evitando a formação de espuma. deixe repousar durante 30 minutos antes de utilizar.

## Conservação e estabilidade

Componentes no dispositivo fechado: Até ao fim do prazo de validade, quando conservado a 2-8°C

HbA1c

R1: 28 dias aberto e refrigerado no analisador

R2: 28 dias aberto e refrigerado no analisador

Hemoglobina

R1: 28 dias aberto e refrigerado no analisador

Calibradores: 8 horas a 15-25°C

2 dias a 2-8°C

3 meses a (-15) - (-25)°C

No caso de virem a ser utilizados outra vez, congele os calibradores de imediato após reconstituição. Se necessário, congele em pequenas alíquotas.

## Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Sangue capilar, com EDTA ou heparinizado

Estabilidade:<sup>13</sup> 3 dias a 15-25°C

7 dias a 2-8°C

6 meses a (-15) - (-25)°C (congelar apenas uma vez)

## Preparação das amostras

Sangue capilar

Obtenha uma amostra de sangue com um tubo capilar descartável e coloque o tubo cheio num tubo de ensaio com 100 vezes mais o reagente hemolisante (p.ex. tubo capilar de 20 µl em 2000 µl de reagente hemolisante). Feche o tubo de ensaio e elimine o sangue do capilar, agitando

vigorosamente. De seguida, misture a solução, rodando-a suavemente ou através do uso de um vortéx. O hemolisado pode ser utilizado depois de a espuma ter desaparecido e de a solução ter mudado de cor, de vermelho para verde acastanhado (aprox. 1-2 min.).

Estabilidade do hemolisado: 24 horas a 2-8°C

6 meses a (-15) - (-25)°C

Antes de usar, eleve a temperatura do reagente hemolisante para a temperatura ambiente.

Sangue com EDTA ou heparinizado

Imediatamente antes de pipetar a amostra, homogeneize muito bem a amostra para obter uma distribuição uniforme dos eritrócitos. Evite a formação de espuma.

Pipetar para um tubo de ensaio ou uma cuvete de amostra:

Hemolisante	1000 µl
Sangue com EDTA ou heparinizado	10 µl

Antes de usar, eleve a temperatura do reagente hemolisante para a temperatura ambiente.

Misture num vortéx ou rode suavemente. Evite a formação de espuma. O hemolisado pode ser utilizado depois de a solução ter mudado de cor, de vermelho para verde acastanhado (aprox. 1-2 min.).

Estabilidade do 4 horas a 15-25°C

hemolisado: 24 horas a 2-8°C

6 meses a (-15) - (-25)°C

## Materiais fornecidos

- Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho" para mais informações sobre os reagentes e os calibradores.

## Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Controlos: Precinorm HbA1c, Ref. 11488422 (EE.UU. # 1488422); Precipath HbA1c, Ref. 11488449 (EE.UU. # 1488449).
- Reagente hemolisante para HbA1c, Ref. 11488457 (EE.UU. # 1488457)
- NaCl a 0,9%
- Equipamento normal de laboratório

## Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter instruções mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

Quando se executam aplicações não validadas pela Roche, esta não garante os resultados, pelo que essas aplicações devem ser definidas pelo utilizador.

## Calibração

Rastreabilidade:

O método da HbA1c foi padronizado de acordo com o método de referência IFCC aprovado para a medição de HbA1c em sangue humano<sup>14,15</sup> e pode ser extrapolado para resultados adaptáveis às normas DCCT/NGSP, através de cálculo.

HbA1c

S1: NaCl a 0,9%

S2-5: Calibradores 3a-d

Introduza os valores específicos do lote, arredondando-os até às duas casas decimais.

Hemoglobina

S1: NaCl a 0,9%

S2: Calibrador 3a

Introduza os valores específicos do lote, arredondando-os até a uma casa decimal.

Os calibradores não têm de ser sujeitos a um tratamento prévio com o reagente hemolisante da HbA1c.

Frequência das calibrações

Recomenda-se a realização de uma calibração completa:

- após a mudança do lote de reagentes
- após a mudança das cuvetes





# HbA1c II

Tina-quant®  Hemoglobina A1c II

- conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo de qualidade
- Verificação da calibração: Não é necessária.

## Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize os materiais de controlo indicados acima. Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

O Precinorm HbA1c e o Precipath HbA1c não têm de ser tratados previamente com o reagente hemolisante da HbA1c.

## Cálculo

Protocolo 1 de acordo com a IFCC

O cálculo da concentração de hemoglobina A1c em percentagem é efectuado através do quociente:

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}} \times 100$$

Protocolo 2 de acordo com a DCCT/NGSP

O cálculo da concentração de hemoglobina A1c em percentagem é feito utilizando a fórmula de correcção:

$$\% \text{ HbA1c} = \left( 87,6 \times \frac{\text{HbA1c [g/dl]}}{\text{Hb [g/dl]}} \right) + 2,27$$

Para um cálculo automático, esta equação deve ser introduzida em PROGRAM "Calculated TEST" no analisador Roche/Hitachi 717, "Test Calculation" no Roche/Hitachi 902, "TEST CALCULATION 04-03" no Roche/Hitachi 911, em "Main/Utility, Calcu Test, Calc" no Roche/Hitachi 917 e 912 e em "Utility, Calc Test" no Roche/Hitachi MOD P.

## Limitações - interferências<sup>16-22</sup>

- Quando o objectivo é o diagnóstico, os valores de %HbA1c têm de ser utilizados juntamente com os resultados de outros procedimentos de diagnóstico e das avaliações clínicas.
- O teste foi concebido apenas para efectuar a medição exacta e precisa da %HbA1c. Não devem ser indicados os resultados individuais da concentração de Hb total e de HbA1c.
- O teste não se destina ao diagnóstico da diabetes mellitus, nem serve para monitorizar o controlo diário da glicose, não devendo ser utilizado para substituir as determinações diárias da glicose no sangue e na urina feitas pelo doente em casa.
- Todos os processos que reduzem a vida dos eritrócitos, reduzem a exposição dos eritrócitos à glicose e podem, portanto, provocar uma diminuição dos valores da %HbA1c, mesmo quando o nível de glicemia médio em função do tempo está elevado. As causas da redução do tempo de vida dos eritrócitos podem ser uma anemia hemolítica ou outras doenças hemolíticas, vestígios de células falciformes homozigóticas, gravidez, perda de sangue recente significativa ou crónica, etc. A interpretação dos resultados da HbA1c deve ser feita com cuidado em doentes com estas patologias.

Critério: Recuperação dentro de  $\pm 10\%$  do valor inicial.

Ictericia: Nenhuma interferência significativa até 50 mg/dl ou 855  $\mu\text{mol/l}$  (bilirrubina conjugada e não-conjugada).

Lipemia (Intralipid): Nenhuma interferência significativa até a uma concentração de triglicéridos de 800 mg/dl ou 9,12 mmol/l. Verifica-se uma correlação fraca entre a turbidez e a concentração de triglicéridos. O factor reumatóide < 750 UI/ml e o ácido ascórbico < 50 mg/dl (2,84 mmol/l) não causam interferências.

Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglubulinemia de Waldenström), pode produzir resultados pouco fiáveis.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

## Intervalo de medição<sup>16</sup>

O intervalo de medição da HbA1c situa-se entre 0,3 g/dl (0,124 mmol/l) e a concentração do padrão mais elevado. No caso de uma concentração normal de hemoglobina de 15 g/dl ou 9,3 mmol/l, isto corresponde a um intervalo de medição entre 2-16% da hemoglobina A1c (valores de IFCC; corresponde aos valores de NGSP/DCCT de 4-16%).

Dado que a concentração do padrão mais elevado é específica do lote, isto deve – quando apropriado – ser tomado em consideração, nas definições do analisador, para o limite superior do intervalo de medição.

Se a concentração de HbA1c for superior à do padrão mais elevado, dilua o hemolisado 1+1 (ou a amostra original 1 + 200) com reagente hemolisante e repita as duas determinações (HbA1c e Hb). Não é necessário nenhum factor de conversão para o resultado da % de HbA1c.

Se a concentração de HbA1c for inferior a 0,3 g/dl, a amostra original tem de ser diluída 1 + 50 com o reagente hemolisante e as duas determinações (HbA1c e Hb) têm de ser repetidas. Não é necessário nenhum factor de conversão para o resultado da % de HbA1c.

Intervalo de medição da hemoglobina: 6-30 g/dl (3,73-18,6 mmol/l).

## Valores teóricos

Doentes metabolicamente saudáveis.

Protocolo 1 (de acordo com a IFCC)

2,9-4,2% HbA1c<sup>23</sup>

Protocolo 2 (de acordo com a DCCT/NGSP):

4,8-5,9 % HbA1c<sup>23</sup>

Os níveis de HbA1c acima do intervalo de referência estabelecido são um indicador de hiperglicemia durante os 2 a 3 meses anteriores ou há mais tempo. Os níveis de HbA1c podem atingir níveis iguais ou superiores a 20% na diabetes mal controlada. Sugere-se que se inicie o tratamento em níveis superiores ou iguais a 8%. Os doentes diabéticos com níveis de HbA1c inferiores a 7% cumprem os objectivos da American Diabetes Association.<sup>19,20</sup>

Os níveis de HbA1c inferiores ao intervalo de referência estabelecido podem indicar episódios recentes de hipoglicemia, a presença de variantes da Hb ou uma redução do tempo de vida dos eritrócitos.

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

## Dados específicos sobre o desempenho<sup>16</sup>

Os dados determinados com um sistema Roche/Hitachi são apresentados a seguir. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

## Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando controlos e sangue total em pool num protocolo interno (n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados.

Hb	Intra-ensaio			Inter-ensaio		
	Média	CV		Média	CV	
Amostra	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	13,5	8,38	0,4	14,0	8,69	1,4
Precipath HbA1c	13,6	8,45	0,5	14,1	8,76	1,4
Sangue total	18,7	11,6	0,6	10,6	6,58	0,9

HbA1c	Intra-ensaio			Inter-ensaio		
	Média	CV		Média	CV	
Amostra	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	0,56	0,35	2,3	0,61	0,38	4,3
Precipath HbA1c	1,42	0,88	1,5	1,53	0,95	3,5
Sangue total	1,71	1,06	2,1	0,89	0,55	3,1



# HbA1c II

Tina-quant®  Hemoglobina A1c II



%HbA1c	Intra-ensaio			Inter-ensaio		
	Média		CV	Média		CV
Amostra	g/dl	mmol/l	%	g/dl	mmol/l	%
Precinorm HbA1c	4,1	2,55	2,2	4,4	2,73	4,4
Precipath HbA1c	10,5	6,52	1,8	10,9	6,77	3,0
Sangue total	9,2	5,71	2,3	8,4	5,22	3,2


## Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

HbA1c: 0,2 g/dl (0,124 mmol/l)


Hemoglobina: 0,3 g/dl (0,186 mmol/l)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado três desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (padrão 1 + 3 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

## Comparação dos métodos

Uma comparação da determinação da hemoglobina A1c, utilizando o ensaio Roche Tina-quant  HbA1c II com os métodos indicados abaixo teve como resultado as seguintes correlações:

(x) = Método de referência IFCC

(y) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valores IFCC

Passing/Bablok<sup>24</sup>

Regressão linear

y = 1,009 x - 0,03

y = 0,979 x + 0,14

τ = 0,950

r = 0,955

DP (md 95) = 0,393

Sy.x = 0,190

Número de amostras analisadas: 64

As concentrações das amostras variaram entre 3,3 e 13,5%.

(x) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valores IFCC

(y) = Aplicação de hemolisado Cobas Integra 700, valores IFCC

Passing/Bablok<sup>24</sup>

Regressão linear

y = 1,000 x + 0,08

y = 0,984 x + 0,20

τ = 0,951

r = 0,996

DP (md 95) = 0,349

Sy.x = 0,18

Número de amostras analisadas: 62

As concentrações das amostras variaram entre 3,2 e 13,9%.

(x) = Tina-quant  HbA1c II, Roche/Hitachi 917, valores DCCT/NGSP

(y) = Aplicação de hemolisado Cobas Integra 700, valores DCCT/NGSP

Passing/Bablok<sup>24</sup>

Regressão linear

y = 1,000 x + 0,07

y = 0,984 x + 0,21

τ = 0,951

r = 0,996

DP (md 95) = 0,306

Sy.x = 0,16

Número de amostras analisadas: 62

As concentrações das amostras variaram entre 5,0 e 14,5%.

## Especificidade<sup>16</sup>

No caso dos anticorpos anti-HbA1c utilizados neste dispositivo, não foi observada qualquer reactividade cruzada com HbA0, HbA1a, HbA1b, hemoglobina acetilada, hemoglobina carbamilada, albumina glicada e HbA1c e HbA1d lábeis.

## Bibliografia

- Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JI, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 1995;18:896-909.
- Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care*. 1994;17:938-939.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993; 329:977-986.
- Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1993;42:1549-1554.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) group. Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998, 352, 837-853.
- Flückiger R, Mortensen HB. Review: glycated haemoglobins. *J Chromatogr*. 1988;429:279-292.
- Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem*. 1986;32:B64-B70.
- Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care* 2002, 25, 275-278
- Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science*. 1978; 200:21-27.
- Karl J et al. Development and Standardization of a New Immunoturbidimetric HbA1c Assay. *Klin Lab* 1993;39:991-996.
- Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR 1910.1030). Federal Register. July 1, 2001;17:260-273.
- Directiva do Conselho (2000/54/CEE). *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* N° L262 de 17 de Out., 2000.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. The Quality of Diagnostic Samples. Brochure in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*, 2<sup>nd</sup> edition. Darmstadt: GIT Verlag, 2001.
- Kobold U, Jeppsson JO, Duellfer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997, 43, 1944-1951.
- Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umemoto M, Weykamp C. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002, 40, 78-89.
- Documentação da Roche Diagnostics.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986, 32, 470-474.
- Greiling H, Gressner AM, eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3<sup>rd</sup> ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:279.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* [Suppl] 18/1, 1995;8-15.
- Sacks BW, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002;48, 436-472.
- Martina WV, Martijn EG, van der Molen M, Schermer JG, Muskiet FAJ. β-N-terminal glycohemoglobins in subjects with common hemoglobinopathies: relation with fructosamine and mean erythrocyte age. *Clin Chem*. 1993;39:2259-2265.
- Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem*. 1993;39:1717-1723.
- Junge W, Wilke B, Halabi A et al. Determination of reference intervals in adults for hemoglobin A1c (HbA1c). Poster presentation 18<sup>th</sup> International Diabetes Federation Congress, Paris 2003.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.



# HBA1C II

Tina-quant®  Hemoglobina A1c II



## Definições do analisador

Se os ensaios não forem executados em modo batch (orientados para testes), a determinação da HB tem de ser realizada imediatamente antes da determinação da HbA1c, para evitar uma possível interferência da Creatinina-Jaffé. Isto pode ser feito, no caso dos sistemas Roche/Hitachi 704/717/747/902/914, atribuindo estes testes a dois canais consecutivos (por ex. Hb no canal 14 e HbA1c no canal 15).

Ao executar grandes séries de amostras de HbA1c, pode ser necessário implementar um procedimento de lavagem especial. Para mais informações, contacte o representante local da Roche.

## Utilizadores dos EUA

Para mais informações sobre o funcionamento, consulte a folha da aplicação.

## Roche/Hitachi 717

Se o ensaio HbA1c II for executado em modo batch (orientado para testes), as cuvets devem ser lavadas uma vez por semana (cell wash) com solução de hidróxido de sódio a 0,1 N.

## Utilizadores do Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 e MODULAR

Introduza os parâmetros da aplicação a partir da disquete da aplicação, da folha com as definições ou da folha com o código de barras, conforme mais adequado.

## Roche/Hitachi 717

Temperatura: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS		Hemoglobina	
	Hemoglobina A1c	Hemoglobina	
TEST	[HBA1C]	[HB]	
ASSAY CODE	[2(2POINT)] - [24]-[50]	[1(1POINT)] - [24]-[0]	
SAMPLE VOLUME (µl)	[10] - [10]	[20] - [20]	
R1 VOLUME	[250] - [50] - [NO]	[230] - [50] - [NO]	
R1 VOLUME	[50] - [20] - [NO]	[0] - [20] - [NO]	
WAVELENGTH	[700] - [340]	[660] - [570]	
CALIB. METHOD	[3] - [1] - [5]	[1] - [0] - [0]	
STD (1) CONC RACK POS	[0.00] - [ ]	[0.0] - [ ]	
STD (2) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
STD (3) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]	
STD (4) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]	
STD (5) CONC RACK POS	[ ] - [ ]	[0] - [0]	
STD (6) CONC RACK POS	[0] - [0]	[0] - [0]	
SD LIMIT	[200]	[0.1]	
DUPLICATE LIMIT	[350]	[50]	
SENSITIVITY LIMIT	[2000]	[250]	
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0] - [INC]	[0] - [INC]	
PROZONE LIMIT	[32000] - [UPPER]	[0] - [UPPER]	
EXPECTED VALUES	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
PANIC VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]	[1.00]	

\_\_ Dados introduzidos pelo operador

## Roche/Hitachi 747

Temperatura: 37°C

Hemoglobina A1c

PROGRAM 4.2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[HBA1C]	-	
ASSAY CODE	[2(2POINT)] - [22]-[50]		
WAVELENGTH	[700(SUB)] - [340 (MAIN)]		
	<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>	
SAMPLE VOLUME (µl)	[10] - [5]	[ ] - [ ]	
EXPECTED VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
PANIC VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0] - [INCREASE]	[ ] - [ ]	
PROZONE LIMIT	[32000] - [UPPER]	[ ] - [ ]	
	<b>R1</b>	<b>R2</b>	
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]	[50]	
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]	[0]	
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[NONLINEAR]		
POINTS	[5]		
STD 1 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 2 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 3 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 4 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 5 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 6 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
SD LIMIT	[200]		
DUPLICATE LIMIT	[350]		
SENSITIVITY LIMIT	[2000]		
STD 1 ABS. LEVEL	[ ] - [ ]		
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]		

\_\_ Dados introduzidos pelo operador

Hemoglobina

PROGRAM 4.2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[HB]	-	
ASSAY CODE	[1(1POINT)] - [22]-[0]		
WAVELENGTH	[660(SUB)] - [570 (MAIN)]		
	<b>SERUM</b>	<b>URINE</b>	
SAMPLE VOLUME (µl)	[20] - [20]	[ ] - [ ]	
EXPECTED VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
PANIC VALUE	[ ] - [ ]	[ ] - [ ]	
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0] - [INCREASE]	[ ] - [ ]	
PROZONE LIMIT	[32000] - [UPPER]	[ ] - [ ]	
	<b>R1</b>	<b>R2</b>	
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]	[0]	
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]	[0]	
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[LINEAR]		
POINTS	[0]		
STD 1 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 2 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 3 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 4 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 5 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
STD 6 CONC RACK POS	[ ] - [ ]-[ ]		
SD LIMIT	[0.1]		
DUPLICATE LIMIT	[50]		
SENSITIVITY LIMIT	[250]		
STD 1 ABS. LEVEL	[ ] - [ ]		
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]		




# HBA1C II

Tina-quant® Hemoglobina A1c II

Roche/Hitachi 902



As alterações ou os acréscimos significativos (caso existam) estão assinalados por uma barra de alteração na margem.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



Nº	<Chemistry>	HbA1c	Hb
1	Test Name	HbA1c	Hb
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End	1 Point
3	Assay Code (2. Test)	0	0
4	Reaction Time	10	10
5	Assay Point 1	17	17
6	Assay Point 2	35	0
7	Assay Point 3	0	0
8	Assay Point 4	0	0
9	Wavelength (SUB)	700	660
10	Wavelength (MAIN)	340	570
11	Sample Volume	10.0	20.0
12	R1 Volume	250	230
13	R1 Pos.	.....	.....
14	R1 Bottle Size	Large	Large
15	R2 Volume	0	0
16	R2 Pos.	0	0
17	R2 Bottle Size	Small	Small
18	R3 Volume	50	0
19	R3 Pos.	.....	0
20	R3 Bottle Size	Small	Small
21	Calib. Type (Type)	Logit-Log(4P)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0	0
23	Calib. Conc. 1	0.00	0.00
24	Calib. Pos. 1	.....	.....
25	Calib. Conc. 2	.....	.....
26	Calib. Pos. 2	.....	.....
27	Calib. Conc. 3	.....	0
28	Calib. Pos. 3	.....	0
29	Calib. Conc. 4	.....	0
30	Calib. Pos. 4	.....	0
31	Calib. Conc. 5	.....	0
32	Calib. Pos. 5	.....	0
33	Calib. Conc. 6	.....	0
34	Calib. Pos. 6	.....	0
35	S1 ABS	0	0
36	K Factor	10000	10000
37	K2 Factor	10000	10000
38	K3 Factor	10000	10000
39	K4 Factor	10000	10000
40	K5 Factor	10000	10000
41	A Factor	0	0
42	B Factor	0	0
43	C Factor	0	0
44	SD Limit	200	0.1
45	Duplicate Limit	350	50
46	Sens. Limit	3000	250
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000	-32000
48	S1 Abs. Limit (H)	32000	32000
49	Abs. Limit	0	0
50	Abs. Limit (D/I)	Increase	Increase
51	Prozone Limit	32000	32000
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Upper	Upper
53	Prozone (Endpoint)	35	35
54	Expect. Value (L)	.....	.....
55	Expect. Value (H)	.....	.....
56	Instr. Fact. (a)	1.0	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0	0.0
58	Key setting	.....	.....

..... Dados introduzidos pelo operador

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

