

HbA1c

Armazenamento e estabilidade
As amostras de sangue total mantêm-se estáveis durante 3 dias a 20-25 °C, durante 7 dias a 2-8 °C e durante 1 ano a -70 °C (congelar apenas uma única vez).

Preparação das amostras

Colocar 1 mL de reagente R3 num tubo de vidro ou de plástico. Acrescentar 20 µL de amostra de sangue bem homogeneizado (calibrador, controlo ou amostra de doente). Deixar repousar durante 5 minutos ou até que a lixe esteja concluída.

As amostras hemolisadas mantêm-se estáveis durante 7 dias a 2-8 °C.

Em alguns automáticos, a hemólise pode ser realizada automaticamente.

VALORES DE REFERÊNCIAS (4,5)

Foram publicadas recomendações para o acompanhamento de doentes diabéticos em 2008 pela ADA (American Diabetes Association).

	NGSP/DCCT (%)	IFCC (mmol/mol)
Não diabéticos	4,0 - 6,0	20 - 42
Alvo em tratamento (adultos, exceto gestantes)	< 7,0	< 53

Todavia, recomenda-se uma taxa o mais próximo possível da normal (6,0 % ou 42 mmol/mol), evitando a hipoglicemia. Em determinados casos, podem ser aplicados valores-alvo menos rigorosos (histórico de hipoglicemia grave, crianças).

Observação: Recomenda-se que cada laboratório estableça e manterá os seus próprios valores de referência para a população desejada. Os valores anteriores são apenas fornecidos a título indicativo.

PROCEDIMENTO

Para equipamentos ELITech Clinical Systems Selectra, adaptações estão disponível mediante pedido. Comprimento de onda: 660 nm Temperatura: 37 °C

	CALIBRAÇÃO	DOSAGEM
Reagente R1	225 µL	225 µL
Ler a absorbância (A1)	-	-
Calibrador hemolisado *	6 µL	-
Amostra hemolisada *	-	6 µL
Misturar e após 4 minutos e 43 segundos, acrescentar:	-	-
Reagente de trabalho R2	75 µL	75 µL
Misturar e ler a absorbância (A2) após 4 minutos.	-	-

* Observação: Em alguns automáticos, a hemólise pode ser realizada automaticamente.

Com o Selectra TouchPro, utilize a aplicação incluída no código de barras disponível no final deste folheto.

CÁLCULO

A taxa de HbA1c é calculada a partir de uma curva de calibração não linear obtida a partir de quatro calibradores de diferentes níveis e de um ponto zero: $HbA1c = f(A2-A1)$

CALIBRAÇÃO (5)

Para a calibração, utilizar a gama de calibradores ELITech HbA1c Calibrator Set, ref. HBAC-0043. Acrescentar um ponto zero (solução de NaCl 9 g/L).

Os valores obtidos com o reagente ELITech HbA1c são normalizados em relação ao sistema NGSP/DCCT (%). Estes valores podem ser convertidos através do cálculo em valores rastreáveis em relação ao método de referência IFCC (mmol/mol).

As seguintes equações podem ser utilizadas para realizar esta conversão de unidade: $NGSP[HbA1c (\%)] = 0,0915 \times IFCC [HbA1c (\text{mmol/mol})] + 2,15\%$ $IFCC [HbA1c (\text{mmol/mol})] = 10,93 \times [NGSP(HbA1c \%) - 23,5 \text{ mmol/mol}]$

CONTROLE DE QUALIDADE

Para verificar a exatidão dos resultados, utilizar os materiais de controle ELITech HbA1c Control L + H (ref. HBAC-0049).

Esses controles devem ser realizados e validados antes das amostras dos pacientes serem testadas. A frequência do controle deve ser efetuada, pelo menos, uma vez por dia, após cada calibração e deve ser adaptada aos procedimentos de controle de qualidade de cada laboratório e aos requisitos regulamentares. Os resultados devem estar dentro dos limites definidos. Se os valores se estiverem fora dos limites definidos, cada laboratório deve tomar as devidas medidas corretivas. Os controles de qualidade devem ser utilizados de acordo com os procedimentos habituais.

ESPECIFICIDADE
Variações da Hemoglobina
Amostras contendo variações de hemoglobina obtidas de um laboratório de referência NGSP foram testadas no ELITech Clinical Systems HbA1c. A ausência de interferência significativa é definida por uma recuperação $\leq +/- 10\%$ do valor de referência do NGSP. - HbC, HbS, HbD, HbE e HbA2: Nenhuma interferência significativa.

- Amostras contendo níveis de HbF de 4% até 20% foram testadas. Amostras de até 6% de HbF não apresentaram interferência significativa. Uma amostra contendo 7% de HbF mostrou um viés de -12,9%; uma amostra contendo 20% de HbF mostrou um viés de -21,5%.

• Références/References/
Referencias/ Referências:
HBAC-0240

**Composition du coffret/ Kit composition/
Composición del kit/ Conteúdo da embalagem :**
R1 1 x 24 mL + R2a 1 x 7,6 mL + R2b 1 x 0,4 mL +
R3 4 x 25 mL



TRATAMENTO DOS RESÍDUOS

Hemoglobina quimicamente modificada
Os seguintes níveis de HbA1c foram testados: 6 e 9%. A ausência de interferência significativa é definida por uma recuperação $\leq +/- 10\%$ do valor inicial.

- Hemoglobina Carbamilada: Nenhuma interferência significativa até 10,0 mmol/L de cianeto de sódio adicionado.

- Hemoglobina acetilada: Nenhuma interferência significativa até 10,0 mmol/L de aspirina adicionada.

- HbA1c lábil: Nenhuma interferência significativa até 1000 mg/dL de glicose adicionada.

O preço exacto depende do valor da gama de calibradores utilizada.

Se o resultado for superior a 16% (151 mmol/mol), anotar resultado como sendo > 16% ($> 151 \text{ mmol/mol}$); não diluir a amostra.

- Limite de branco (LoB) e limite de detecção (LoD)
Determinado de acordo com o protocolo CLSI EP7-A⁽⁷⁾
LoB = 0,7 %
LoD = 0,8 %

PRECISÃO

Determinado de acordo com o protocolo CLSI EP5-A⁽⁸⁾.

- Estabilidade no autómato (posição refrigerada)

Os reagentes mantêm-se estáveis durante 14 dias no autómato.

Uma nova calibração deve ser efetuada após cada mudança de lote de reagente, quando os resultados do(s) controle(s) de qualidade estiverem fora do intervalo estabelecido e após uma operação de manutenção. Para prolongar a estabilidade de calibração, recomendava-se que os frascos de reagentes sejam fechados após a utilização.

BIBLIOGRAPHIE/BIBLIOGRAPHY

BIBLIOGRAFIA/BIBLIOGRAFIA

1. Sacks, D.B., Carbohydrates, Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th Ed., Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2001), 427.

2. Sacks, D.B., et al., Clinical Chemistry, (2002), 48, 436.

3. Guder, W.G., et al., Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations and stability of blood, plasma and serum samples, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2. 2002.

4. American Diabetes Association, Standards of Medical Diabetes Care in Diabetes-2008, Diabetes Care, (2008), 31 Suppl 1, S12.

5. Weykamp, C., et al., A review of the Challenge in Measuring Hemoglobin A1c, J Diabetes Sci Technol, (2009), 3, 439.

6. Evaluation of the Linearity of the Measurement of Quantitative Procedures: a Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI (NCCLS) document EP6-A (2003), 23 (16).

7. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantification; Approved Guideline. CLSI (NCCLS) document EP17-A (2004), 24 (34).

8. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline—Second Edition. CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004), 24 (25).

9. Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition. CLSI (NCCLS) document EP9-A2 (2002), 212 (19).

10. Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, and McKenzie EM. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. Clin. Chem. (1986) 32, B64-B70.

11. Interference Testing in Clinical Chemistry ; Approved Guideline - Second Edition. CLSI (NCCLS) document EP7-A2 (2005), 25 (27).

12. Vassault, A., et al., Ann. Biol. Clin., (1986), 44, 686.

13. Young, D.S., Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests, 2nd Ed., AACC Press, (1997).

14. Young, D.S., Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th Ed., AACC Press, (1995).

SYMBOLES/SYMBOLS/ SÍMBOLOS/SÍMBOLOS

Les symboles utilisés sont décrits dans la norme ISO-15223-1 hormis ceux présentés ci-dessous.
Symbols used are defined on ISO-15223-1 standard, except those presented below.

- Hemoglobina Carbamilada: Nenhuma interferência significativa até 10,0 mmol/L de cianeto de sódio adicionado.

- Hemoglobina acetilada: Nenhuma interferência significativa até 10,0 mmol/L de aspirina adicionada.

- HbA1c lábil: Nenhuma interferência significativa até 1000 mg/dL de glicose adicionada.

Os símbolos utilizados são descritos na norma ISO-15223-1 a exceção dos presentados a continuación.

Os símbolos utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilisés sont définis dans la norme ISO-15223-1, sauf ceux indiqués ci-dessous.

Les symboles utilisés sont décrits dans la norme ISO-15223-1 hormis ceux présentés ci-dessous.

Les symboles utilisés sont définis dans la norme ISO-15223-1, sauf ceux indiqués ci-dessous.

Les symboles utilisés sont décrits dans la norme ISO-15223-1 hormis ceux présentés ci-dessous.

Les symboles utilisés sont définis dans la norme ISO-15223-1, sauf ceux indiqués ci-dessous.

Les symboles utilisés sont décrits dans la norme ISO-15223-1 hormis ceux présentés ci-dessous.

Les symboles utilisés sont définis dans la norme ISO-15223-1, sauf ceux indiqués ci-dessous.

Les symboles utilisés sont décrits dans la norme ISO-15223-1 hormis ceux présentés ci-dessous.

Les symboles utilisés sont définis dans la norme ISO-15223-1, sauf ceux indiqués ci-dessous.

Les symboles utilisés sont décrits dans la norme ISO-15223-1 hormis ceux présentés ci-dessous.

Les symboles utilisés sont définis dans la norme ISO-15223-1, sauf ceux indiqués ci-dessous.

Les symboles utilisés sont décrits dans la norme ISO-15223-1 hormis ceux présentés ci-dessous.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

Les symboles utilizados são definidos na norma ISO-15223-1, exceto os apresentados abaixo.

HbA1c

• Références/References/
Referencias/ Referências:
HBAC -0240

Composition du coffret/ Kit composition/
Composición del kit/ Conteúdo da embalagem :
R1 1 x 24 mL + R2a 1 x 7.6 mL + R2b 1 x 0.4 mL +
R3 4 x 25 mL

HbA1c

• Références/References/
Referencias/ Referências:
HBAC -0240

Composition du coffret/ Kit composition/
Composición del kit/ Conteúdo da embalagem :
R1 1 x 24 mL + R2a 1 x 7.6 mL + R2b 1 x 0.4 mL +
R3 4 x 25 mL

PRINCIPLE

1st reaction:

The sample is mixed with R1 which contains uncoated latex particles. As total haemoglobin and HbA1c have the same absorption affinity for these particles, the %HbA1c present in the sample is proportional to latex-bound HbA1c.

2nd reaction:

Reagent R2 contains a mouse anti-human HbA1c monoclonal antibody and a goat anti-mouse polyclonal antibody. Agglutination complexes are formed from the interaction between latex-bound HbA1c and the corresponding antibodies. Turbidity created by these aggregates is proportional to the amount of latex-bound HbA1c and therefore is proportional to the %HbA1c in the sample. A non-linear calibration curve is used to obtain the %HbA1c.

COMPOSITION

Reagent 1: R1

Suspended latex particles 0.13 %
Sodium azide < 0.1 %

Buffer, stabilizers

Working reagent R2: R2a+R2b
Mouse anti-human HbA1c monoclonal antibody 0.05 mg/mL

Goat anti-mouse IgG polyclonal antibody 0.08 mg/dL
Sodium azide < 0.1 %

Buffer, stabilizers

Reagent 3: R3 (hemolysis reagent)
Sodium azide < 0.1 %

Water, stabilizer

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- HBAC-0043 HbA1c CALIBRATOR SET
- HBAC-0049 HbA1c CONTROL L & H
- Normal saline solution (NaCl 9 g/L).
- General Laboratory equipment.

- Do not use materials that are not required as indicated above.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This *in vitro* diagnostic device is for professional use only.
- The reagents R1, R2a, R2b et R3 contain sodium azide which may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. When disposing of these reagents always flush with copious amounts of water to prevent azide buildup.
- Take normal precautions and adhere to good laboratory practice.
- Use clean or single use laboratory equipment only to avoid contamination.
- Do not interchange reagent vials from different kits.
- For more information, Safety Data Sheet (SDS) is available on request for professional user.

STABILITIES

Store at 2-8 °C and protect from light. Do not freeze.
Do not use after expiration dates indicated on the vial labels.

On board stability :
The on-board stability is specific for each analyzer.
(Refer to § PERFORMANCE DATA).

PREPARATION

Reagent R1: Ready for use
Working reagent R2: Pour entire content of R2b in R2a. Mix gently.

Stability: 4 weeks at 2-8 °C.
Reagent R3: Ready for use.

PRODUCT DETERIORATION

- The solutions of reagents R2a, R2b and R3 should be clear. Cloudiness would indicate deterioration. The reagent R1 solution may present slightly hazy appearance without consequence on the performances of the product.
- Do not use the product if there is visible evidence of biological, chemical or physical deterioration.
- Do not use the product if the damages of packaging might have an effect on the product performance (leakages, pierced vial).

SAMPLES (2,3)

Specimen
- Whole blood collected on EDTA.
- Do not use other specimens.

Warnings and precautions
According to Good Laboratory Practice, sampling should be performed prior to the administration of drugs.

Storage and stability

Whole blood samples are stable 3 days at 20-25 °C, 7 days at 2-8 °C and 1 year at -70 °C (freeze only once).

Preparation of samples

Dispense 1 mL of reagent R3 in a plastic or glass tube. Add 20 µL of well mixed blood sample (calibrator),

control or patient sample). Allow to stand for 5 minutes or until lysis is complete. Haemolysed samples are stable for 7 days at 2-8 °C.
On some analysers, hemolysis can be done on-board.

REFERENCE VALUES (4,5)

Recommendations for the follow-up of diabetic patients have been published in 2008 by ADA (American Diabetes Association).

	NGSP/DCCT (%)	IFCC (mmol/mol)
Non-diabetics	4.0 - 6.0	20 - 42
Goal under therapy (adults, except pregnant women)	< 7.0	< 53
Level 1	80	4.2
Level 2	80	7.1
Level 3	80	10.4

However, a level as close as possible to normal level (6.0 % or 42 mmol/mol) is recommended while avoiding hypoglycaemia. Less stringent goals may be applied in some cases (history of severe hypoglycaemia, children).

Note : The quoted range should serve as a guide only. It is recommended that each laboratory verifies this range or establishes a reference interval for the intended population.

PROCEDURE

For ELITech Clinical Systems Selectra Analyzers, applications are available on request.

Wavelength 660 nm

Temperature: 37 °C

	CALIBRATION	TEST
Reagent R1	225 µL	225 µL
Read absorbance (A1)		
Hemolysed calibrator *	6 µL	-
Hemolysed sample *	-	6 µL
Mix and after 4 minutes and 43 seconds, add :		
Working reagent R2	75 µL	75 µL
Mix and after 4 minute of incubation, measure the absorbance (A2)		

* Note : On some analysers, hemolysis can be done on-board.

With Selectra TouchPro software, use the application included in the barcode available at the end of this insert.

CALCULATION

Rate of HbA1c is calculated from a non linear calibration curve obtained from four calibrators of different levels and a zero point:

$$HbA1c = f(A2-A1)$$

CALIBRATION (5)

For calibration use ELITech HbA1c Calibrator Set, ref. HBAC-0043.

Add a zero point (NaCl, 9 g/L solution).

The values obtained with ELITech HbA1c reagent have been standardized from NGSP/DCCT (%) System. These values can be converted by calculation to traceable values from IFCC reference method (mmol/mol).

Following equations can be used to make this unit conversion :

$$HbA1c = f(A2-A1)$$

Calibrated Hemolysed: No significant interference up to 29.5 mg/dL (513 µmol/L).

Triglycerides: No significant interference up to 3046 mg/dL (34.42 mmol/L).

Acetyl salicylic acid: No significant interference up to 200 mg/dL.

Rhume factor: No significant interference up to 1000 IU/mL.

Ascorbic acid: No significant interference up to 20 mg/dL.

Interference due to Vitamin E has not been assessed.

- Specificity

Hemoglobin variants

Samples containing hemoglobin variants obtained from a NGSP reference lab were tested on ELITech Clinical Systems HbA1c. A no significant interference is defined by a recovery within +/-10% of NGSP reference value.

- HbC, HbS, HbD, HbE and HbA2: No significant interference.

- Samples containing HbF levels of 4% HbF up to 20%

HbF were tested. Samples up to 6% HbF showed no significant interference. A sample containing 7% HbF showed a bias of -12.9 %, a sample containing 20% HbF showed a bias of -21.5 %.

Chemically modified hemoglobin

The following HbA1c levels were tested: 6 % and 9 %. A no significant interference is defined by a recovery within +/-10% of the initial value.

- Carbamylated hemoglobin: No significant interference up to 10.0 mmol/L of added sodium cyanate.

- Acetylated hemoglobin: No significant interference up to 10.0 mmol/L of added aspirin.

- Labile HbA1c: No significant interference up to 1000 mg/dL of added glucose.

- It has been reported that results may be unreliable with patients who suffer from alcoholism (formation of acetaldehyde hemoglobin).⁽¹⁰⁾

- Many other substances and drugs may interfere. Some of them are listed in reviews published by Young.⁽¹³⁻¹⁴⁾

The exact range depends on the calibrator set used.

If the result is higher than 16 % (> 151 mmol/mol), report result as > 16 % (> 151 mmol/mol), do not dilute the sample.

Disposal of all waste material should be in accordance with local, state and federal regulatory requirements.

PERFORMANCE DATA at 37 °C on ELITECH Clinical Systems Selectra ProM Analyzers

- Measuring range

Determined according to EP6-A protocol of CLSI⁽⁶⁾, the reagent is linear from 2.5 % to 16 % (4 to 151 mmol/mol).

The exact range depends on the calibrator set used.

If the result is higher than 16 % (> 151 mmol/mol), report result as > 16 % (> 151 mmol/mol), do not dilute the sample.

Dispense 1 mL of reagent R3 in a plastic or glass tube. Add 20 µL of well mixed blood sample (calibrator),

- Limit of Blank (LoB) and Limit of Detection (LoD)
Determined according to CLSI⁽⁷⁾ EP17-A protocol.

LoB = 0.7 %

LoD = 0.8 %

- Precision

Determined according to EP5-A2 protocol of CLSI.⁽⁸⁾

	Mean	Within-run Total
n	%	mmol/L/mol
CV (%)		
Level 1	80	4.2
Level 2	80	7.1
Level 3	80	10.4

- Correlation

A comparative study has been performed according to CLSI EP9-A2 protocol⁽⁹⁾ between an ELITech Clinical Systems Selectra ProM Analyzer and another FDA-approved system equipment (equivalent method) on 40 human blood samples.

The sample concentrations were between 4.0 and 13.9 % (20 and 128 mmol/mol). The parameters of linear regression are as follows :

$$\text{Correlation coefficient: } r = 0.998$$

Linear regression: $y = 1.007x + 0.0\%$

- Limitations/Interferences^(1,2,10)

- This device should not be used for the diagnosis of diabetes mellitus and in judging day-to-day glucose control, and should not be used to replace daily home testing of blood glucose.

The following HbA1c levels are based on the Selectra ProM system. The reagent is linear from 2.5 % to 16 % (4 to 151 mmol/mol).

Interpretation of HbA1c values is based on erythrocytes lifespan; any change in this lifespan induces HbA1c rates which are not interpretable with reference values presented here (hemolytic diseases, recent significant blood loss, pregnancy).

- Not report results outside of the usable range.

Studies have been performed to determine the level of interference from different compounds according to CLSI EP7-A2 protocol⁽¹¹⁾ and SFBC recommendations⁽¹²⁾.

The following HbA1c levels were tested: 7 % and 10 %.

A no significant interference is defined by a recovery within +/-8% of the initial value.

Unconjugated Bilirubin: No significant interference up to 30 mg/dL (513 µmol/L).