



# HbA1c

*enzymatic*

Método enzimático para la determinación de HbA1c en sangre entera

## SIGNIFICACION CLINICA

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica, que comprende un conjunto de desórdenes del metabolismo de los hidratos de carbono que cursan con una manifestación común: la hiperglicemia.

El control glicémico periódico permite prevenir los trastornos agudos y reducir el riesgo de las complicaciones tardías de la enfermedad (retinopatía, nefropatía, neuropatía y enfermedades cardiovasculares).

La relación entre el desarrollo y progresión de las complicaciones microvasculares y el control glicémico ha sido debatida por muchos años, en parte debido a los métodos inadecuados para realizar un control glicémico retrospectivo. Los métodos tradicionales de medición de glucosa en sangre y orina tienen un valor limitado para este propósito, y sólo fue con el desarrollo de determinaciones para proteínas glicosiladas o glicadas, que se ha logrado un conocimiento exacto y objetivo del estado glicémico a largo plazo.

Las glicohemoglobinas, también llamadas hemoglobinas glicosiladas o glicadas, fueron descritas por primera vez en 1968 por Rahbar como "hemoglobinas diabéticas". Su producción depende de la concentración de glucosa y ocurre a través de un proceso no enzimático post-traduccional llamado glicación, donde el azúcar es unido a los grupos amino de las moléculas de hemoglobina (Hb). La glicación de los aminoácidos N terminales de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  como así también los grupos  $\epsilon$ -amino de los residuos de lisina en la molécula de hemoglobina, resultan en una variedad de hemoglobinas glicadas, incluyendo HbA1c, que es la especie glicosilada en la valina N-terminal de la cadena  $\beta$ .

Los niveles de %HbA1c son proporcionales a la concentración de glucosa en sangre durante las últimas 6-8 semanas. Así, la determinación de %HbA1c provee un parámetro integral para monitorear el curso del control de glucosa a largo plazo.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

**HbA1c enzymatic** es un método enzimático en el cual muestras de sangre entera lisadas son sometidas a una digestión proteica por medio de una proteasa. Este proceso libera aminoácidos, incluyendo valinas glicadas de las cadenas beta de hemoglobina. Las valinas glicadas actúan como sustratos de la enzima fructosil valina oxidasa (FVO). Esta enzima cliva específicamente valinas N terminales y genera peróxido de hidrógeno. Este último a su vez, es cuantificado en una reacción catalizada por la peroxidasa (POD) en presencia de un cromógeno. No es necesaria una medida separada de la hemoglobina total (Hb).

La concentración de HbA1c se expresa directamente como %HbA1c.

## REACTIVOS PROVISTOS

**A<sub>1</sub>. Reactivo A<sub>1</sub>:** buffer de Goods 5 mM, pH 7,0, Tritón X-100 0,5% y proteasas 4 kU/ml.

**A<sub>2</sub>. Reactivo A<sub>2</sub>:** buffer de Goods 1 mM, pH 6,3.

**B. Reactivo B:** buffer Tris 15 mM, pH 8,0, FVO > 10 U/mL, POD 90 U/mL y cromógeno 0,8 mM.

## REACTIVOS NO PROVISTOS

- **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** de Wiener lab.

- **HbA1c enzymatic Control** de Wiener lab.

- **HbA1c enzymatic Calibrator** de Wiener lab.

- Agua desmineralizada.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivos A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> y B:** listos para usar para analizadores capaces de trabajar con tres reactivos.

Para analizadores que trabajen con dos reactivos, premezclar los reactivos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> en una relación 7:3 respectivamente. Mezclar por inversión y dejar en reposo a 2-10°C por al menos 12 horas previas al uso.

**HbA1c enzymatic Lysis buffer:** listo para usar.

## PRECAUCIONES

Los Reactivos Provistos son para uso diagnóstico "in vitro". Los reactivos A<sub>2</sub> y B son fotosensibles. Conservar en lugar oscuro.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los **Reactivos Provistos** son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

**Reactivos A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> y B:** una vez abiertos se recomienda conservar los reactivos en refrigerador (2-10°C) bien cerrados. No congelar.

**Reactivos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> premezclados:** estables 4 semanas a 2-10°C

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer:** estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta. Evitar contaminaciones (no introducir pipetas u otros elementos en su interior. Cerrar el frasco luego de su uso.

## MUESTRA

Sangre entera anticoagulada

**a) Recolección:** obtener la muestra de la manera usual.

**b) Aditivos:** se recomienda el uso de EDTA (**Anticoagulante W** de Wiener lab) como anticoagulante.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** no se observan interferencias por bilirrubina (conjugada y no conjugada) hasta 15 mg/dL, triglicéridos hasta 2000 mg/dL, ácido ascórbico hasta 25 mg/dL, glucosa hasta 4000 mg/dL, ácido úrico hasta 20 mg/dL y urea hasta 100 mg/dL.

Deberán interpretarse con cuidado los valores de %HbA1c obtenidos en aquellas patologías o situaciones que alteran la vida media de los eritrocitos, como anemias hemolíticas, anemias ferropénicas, transfusiones, pérdidas de sangre, etc.

Referirse a las bibliografías de Young para los efectos de las drogas y las enfermedades en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la muestra es estable 3 días a temperatura ambiente (15-25°C) o 14 días refrigerada (2-10°C).

### PREPARACION DE LA MUESTRA

Permitir que **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** tome temperatura ambiente antes de usar. Homogeneizar la muestra de sangre por inversión repetida, hasta obtener una suspensión completa, evitando la formación de espuma.

En un tubo de Kahn o hemólisis, agregar:

<b>HbA1c enzymatic Lysis Buffer</b>	250 uL
-------------------------------------	--------

<b>Muestra</b>	20 uL
----------------	-------

Mezclar, agitando por inversión repetida o bien emplear vórtex. Evitar la formación de espuma. Incubar a temperatura ambiente (15-25°C) por al menos 10 minutos para asegurar la lisis completa de los eritrocitos. La muestra hemolizada podrá ser empleada una vez obtenida una solución roja oscura y limpia, sin partículas en solución.

Los calibradores y controles deben ser tratados exactamente igual que las muestras de pacientes.

**Estabilidad de las muestras hemolizadas:** estables 4 horas a temperatura ambiente (< 25°C).

### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Analizador automático.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos de Kahn o hemólisis.

### CONDICIONES DE REACCION

**Parámetros generales para analizadores automáticos capaces de trabajar con 3 reactivos:**

**HbA1c enzymatic** es un método de punto final y el primer punto de lectura es inmediatamente anterior al agregado del reactivo B.

Nombre del test	HbA1c enzymatic
Tipo de reacción	Punto final
Long. de onda primaria	700 nm
Long. de onda secundaria	800 nm
Temperatura	37°C
Volumen de Reactivo A <sub>1</sub>	112 uL
Volumen de muestra	25 uL
Incubación	120 segundos
Volumen de Reactivo A <sub>2</sub>	48 uL
Incubación	300 segundos
Volumen de Reactivo B	70 uL
Incubación	180 segundos
Calibración	2 puntos
Calibradores	1 y 2

### Parámetros generales para analizadores automáticos capaces de trabajar con 2 reactivos:

**HbA1c enzymatic** es un método de punto final y el primer punto de lectura es inmediatamente anterior al agregado del reactivo B. Premezclar los reactivos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> como se describe en la sección preparación de reactivos.

Nombre del test	HbA1c enzymatic
Tipo de reacción	Punto final
Long. de onda primaria	700 nm
Long. de onda secundaria	800 nm
Temperatura	37°C
Volumen de Reactivo A <sub>1,2</sub>	160 uL
Volumen de muestra	25 uL
Incubación	300 segundos
Volumen de Reactivo B	70 uL
Incubación	180 segundos
Calibración	2 puntos
Calibradores	1 y 2

Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo. Solicitar aplicaciones para los analizadores comercializados por Wiener lab. Las aplicaciones no provistas por Wiener lab. deben ser validadas.

### INTERPRETACION DE RESULTADOS

Los valores de %HbA1c son expresados directamente según el National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) y el Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). Los resultados según DCCT/NGSP (%) pueden ser convertidos a IFCC (%) a través de la siguiente fórmula:  
$$\text{IFCC (\%)} = [\text{NGSP (\%)} - 2,15] / 0,915$$

### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

**HbA1c enzymatic Control** de Wiener lab.

Los controles requieren tratamiento previo con el reactivo **HbA1c enzymatic Lysis buffer** al igual que los calibradores y muestras de pacientes.

### VALORES DE REFERENCIA

Personas con metabolismo sano, de acuerdo a DCCT/NGSP: 4,8-5,9% de HbA1c.

En base a los estudios de DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) se considera que niveles mayores a 7% de HbA1c se asocian a mayor riesgo de complicaciones crónicas. En general se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia, dentro de su población de pacientes.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Se recomienda realizar una calibración completa, cuando se cambia de lote de reactivo y/o de lote de **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** o cuando el control de calidad así lo determina. Este método fue diseñado para informar %HbA1c, por lo que no deben ser informados por separado los valores de HbA1c y Hb.

El kit **HbA1c enzymatic** debe ser usado siempre que el valor de hemoglobina del paciente se encuentre dentro del rango 9-21 g/dL. No utilizar este método para valores de Hb fuera de este rango.

Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** fue evaluada a través del protocolo EP15-A de CLSI. Para ello se procesaron en Wiener lab CT600i, 3 muestras con niveles diferentes de HbA1c, obteniéndose los siguientes resultados:

#### Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
5,39 %	0,04 %	0,72 %
10,89 %	0,06 %	0,56 %
12,11 %	0,09 %	0,71 %

#### Precisión total

Nivel	D.S.	C.V.
5,39 %	0,07 %	1,32 %
10,89 %	0,09 %	0,82 %
12,11 %	0,19 %	1,54 %

**b) Límite de detección:** 4%. (%HbA1c).

**c) Linealidad:** **HbA1c enzymatic** posee un rango lineal entre 4% y 14%. Muestras con valores superiores a 14% no deben ser diluidas y ensayadas nuevamente. Los resultados deben ser reportados como mayores a 14% (> 14%).

### PRESENTACION

1 x 18 mL Reactivo A<sub>1</sub>  
1 x 8 mL Reactivo A<sub>2</sub>  
1 x 12 mL Reactivo B  
(Cód. 1999735)

1 x 36 mL Reactivo A<sub>1</sub>  
1 x 16 mL Reactivo A<sub>2</sub>  
2 x 12 mL Reactivo B  
(Cód. 1009621)

1 x 36 mL Reactivo A<sub>1</sub>  
1 x 16 mL Reactivo A<sub>2</sub>  
2 x 12 mL Reactivo B  
(Cód. 1009929)\*

Wiener lab. provee separadamente:

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer:** 1 x 50 mL (Cód.1999729)

### BIBLIOGRAFIA

- Rahbar, S. - Clin. Chim. Acta 22:296 (1968).
- Bunn, H. et al - Science 200:21 (1978).
- Goldstein, D. et al - Diabetes Care 17:938 (1994).
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. N. Engl. J. Med. 329:977 (1993).
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group - Lancet 352:837 (1998).
- Weykamp C.W. et al - Clin. Chem. 41:82 (1995).
- Sacks, D. - Clin. Chem. 49:1245 (2003).
- Martina, W. et al - Clin. Chem. 39:2259 (1993).
- Karl, J. et al - Klin. Lab. 39:991 (1993).
- American Diabetes Association - Diabetes Care [Supl] 24/1(2001).
- John, G. - Clin. Chem. Lab. Med. 41:1199 (2003).
- Jeppsson, J. et al - Clin. Chem. Lab. Med. 40:78 (2002).
- Jarausch, J. et al - Clin. Chem. 42:116 (Abstract 094) (1996).
- Junge, W. et al - Poster presentation 18th International Diabetes Federation Congress, Paris 2003.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5ª Ed.) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- Young D.S. - "Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) Protocols EP15-A, 1999 / EP17-A, 2004.

### SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

- Representante autorizado en la Comunidad Europea
- Uso diagnóstico "in vitro"
- Fecha de caducidad
- Límite de temperatura (conservar a)
- No congelar
- Contenido
- Número de lote
- Elaborado por:
- Consultar instrucciones de uso
- Número de catálogo



# HbA1c

*enzymatic*

Método enzimático para a determinação de HbA1c em sangue total

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A diabetes mellitus é uma enfermidade crônica, que compreende um conjunto de desordens do metabolismo dos hidratos de carbono que cursam com uma manifestação comum: a hiperglicemia.

O Controle glicêmico periódico permite prevenir os transtornos agudos e reduzir o risco das complicações tardias da enfermidade (retinopatia, nefropatia, neuropatia e enfermidades cardiovasculares).

A relação entre o desenvolvimento e progressão das complicações microvasculares e o controle glicêmico está sendo debatida por muitos anos, em parte devido aos métodos inadequados para realizar um controle glicêmico retrospectivo.

Os métodos tradicionais de medição de glicose no sangue e na urina têm um valor limitado para este propósito, e só foi com o desenvolvimento de determinações para proteínas glicosiladas ou glicadas, que foi alcançado um conhecimento exato e objetivo do estado glicêmico a longo prazo.

As glicohemoglobinas, também chamadas hemoglobinas glicosiladas ou glicadas, foram descritas pela primeira vez em 1968 por Rahbar como «hemoglobinas diabéticas». Sua produção depende da concentração de glicose e ocorre através de um processo não enzimático pós-traducional chamado glicação, onde o açúcar é unido aos grupos amino das moléculas de hemoglobina (Hb). A glicação dos aminoácidos N-terminais das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ , como assim também dos grupos  $\epsilon$ -amino dos resíduos de lisina na molécula de hemoglobina, resultam em uma variedade de hemoglobinas glicadas, incluindo HbA1c, que constitui a espécie glicosilada na valina N-terminal da cadeia  $\beta$ .

Os níveis de %HbA1c são proporcionais à concentração de glicose no sangue durante as últimas 6-8 semanas. Assim a determinação de %HbA1c provê um parâmetro integral para monitorar o curso do controle de glicose a longo prazo.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

**HbA1c enzymatic** é um método enzimático no qual as amostras de sangue total lisadas são submetidas a uma digestão protéica mediante uma protease. Este processo libera aminoácidos que incluem valinas glicadas das cadeias beta de hemoglobina. As valinas glicadas atuam como substratos da enzima fructosil valina oxidase (FVO). Esta enzima cliva especificamente valinas N-terminais e gera peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é quantificado em uma reação catalisada pela peroxidase (POD) em presença de um cromógeno. Não é necessária uma medida separada

da hemoglobina total (Hb).

A concentração de HbA1c é expressa como %HbA1c.

## REAGENTES FORNECIDOS

**A<sub>1</sub>. Reagente A<sub>1</sub>:** tampão de Goods 5 mM, pH 7,0, Triton X-100 0,5% e proteases 4 kU/mL.

**A<sub>2</sub>. Reagente A<sub>2</sub>:** tampão de Goods 1 mM, pH 6,3.

**B. Reagente B:** tampão Tris 15 mM, pH 8,0, FVO < 10 U/mL, POD 90 U/mL e cromógeno 0,8 mM.

## REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** de Wiener lab.

- **HbA1c enzymatic Control** de Wiener lab.

- **HbA1c enzymatic Calibrator** de Wiener lab.

- Água desmineralizada

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagentes A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> e B:** prontos para uso em analisadores capazes de trabalhar com três reagentes. Para analisadores que trabalham com dois reagentes, pré-misturar os reagentes A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> em uma proporção 7:3 respectivamente. Misturar por inversão e deixar em repouso a 2-10°C pelo menos durante 12 horas antes de usar.

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer:** pronto para uso.

## PRECAUÇÕES

Os Reagentes Fornecidos são para uso diagnóstico "in vitro". Os Reagentes A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> são foto-sensíveis. Conservar ao abrigo da luz.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análise clínica.

Todos os reagentes e as amostras devem-se descartar conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os **Reagentes Fornecidos** são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

**Reagentes A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> e B:** uma vez abertos é recomendável conservar sob refrigeração (2-10°C) bem fechados. Não congelar.

Os **Reagentes A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> pré-misturados** são estáveis durante 4 semanas a 2-10°C.

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer:** estável sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Evitar contaminações (não introduzir pipetas ou outros elementos no seu interior). Fechar o frasco após o seu uso.

## AMOSTRA

Sangue inteiro anticoagulado

**a) Coleta:** obter a amostra da maneira usual.

**b) Aditivos:** recomenda-se o uso de heparina ou EDTA (Anticoagulante W da Wiener lab.) como anticoagulante.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** não são observadas interferências por bilirrubina (conjugada e não conjugada) até 15 mg/dL, triglicerídeos até 2000 mg/dL, ácido ascórbico até 25 mg/dL, glicose até 4000 mg/dL, ácido úrico até 20 mg/dL nem uréia até 100 mg/dL.

Deverão ser interpretados com precaução os valores de %HbA1c obtidos naquelas patologias ou situações que alteram a vida média dos eritrócitos, como anemias hemolíticas, anemias ferroprivas, transfusões, perda de sangue, etc.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas e enfermidades neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a amostra é estável 3 dias a temperatura ambiente (15-25°C), ou 14 dias sob refrigeração (2-10°C).

### PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Permitir que o **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** fique em temperatura ambiente antes de usar. Homogeneizar a amostra de sangue por inversão repetida até obter uma suspensão completa, evitando a formação de espuma.

Em um tubo de Kahn ou hemólise, colocar:

<b>HbA1c enzymatic Lysis Buffer</b>	250 uL
-------------------------------------	--------

<b>Amostra</b>	20 uL
----------------	-------

Misturar, agitando por inversão repetida ou utilizar vortex. Evitar a formação de espuma.

Incubar a temperatura ambiente (15-25°C) pelo menos 10 minutos para assegurar a lise completa dos eritrócitos. A amostra hemolisada pode ser utilizada uma vez obtida uma solução vermelha escura e limpa, sem partículas em solução.

Os calibradores e controles devem ser tratados da mesma maneira que as amostras de pacientes.

**Estabilidade de amostras hemolisadas:** estáveis 4 horas a temperatura ambiente (< 25°C).

### MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Analisador automático.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos de Kahn ou hemólise.

### CONDIÇÕES DE REAÇÃO

**Parâmetros gerais para analisadores automáticos capazes de trabalhar com 3 reagentes:**

**HbA1c enzymatic** é um método de ponto final e o primeiro ponto de leitura é imediatamente anterior ao acréscimo do reagente B.

Nome do test	HbA1c enzymatic
Tipo de reação	Ponto final
Comprimento. de onda 1 <sup>a</sup>	700 nm
Comprimento. de onda 2 <sup>a</sup>	800 nm
Temperatura	37°C
Volume de Reagente A <sub>1</sub>	112 uL
Volume de amostra	25 uL
Incubação	120 segundos
Volume de Reagente B	48 uL
Incubação	300 segundos
Incubação	70 uL
Incubação	180 segundos
Calibração	2 pontos
Calibradores	1 e 2

### Parâmetros gerais para analisadores automáticos capazes de trabalhar com 2 reagentes:

**HbA1c enzymatic** é um método de ponto final e o primeiro ponto de leitura é imediatamente anterior ao acréscimo do reagente B. Pré-misturar os Reagentes A1 e A2 como é descrito em PREPARAÇÃO DE REAGENTES

Nome do test	HbA1c enzymatic
Tipo de reação	Ponto final
Comprimento. de onda 1 <sup>a</sup>	700 nm
Comprimento. de onda 2 <sup>a</sup>	800 nm
Temperatura	37°C
Volume de Reagente A <sub>1,2</sub>	160 uL
Volume de amostra	25 uL
Incubação	300 segundos
Volume de Reagente B	70 uL
Incubação	180 segundos
Calibração	2 pontos
Calibradores	1 e 2

Os volumes de amostra e reagentes podem-se variar proporcionalmente, sem que sejam alterados os fatores de cálculo. Solicitar as aplicações para os analisadores comercializados pela Wiener lab. As aplicações não fornecidas pela Wiener lab. devem ser avaliadas.

### INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

Os valores de HbA1c (%) são expressos diretamente segundo o National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) e o Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). Os resultados segundo DCCT/NGSP (%) podem ser convertidos a IFCC (%) através da seguinte fórmula:  
$$\text{IFCC (\%)} = [\text{NGSP (\%)} - 2,15] / 0,915$$

### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

**HbA1c enzymatic Control** de Wiener lab.

Os controles requerem tratamento prévio com o reagente **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** assim como os calibradores e amostras de pacientes.

### VALORES DE REFREÊNCIA

Pessoas com metabolismo sadio, segundo a DCCT/NGSP: 4,8-5,9% de HbA1c

Baseado nos estudos de DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) é considerado que níveis maiores a 7% de HbA1c estão associados a maior risco de complicações crônicas. É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos de referência dentro da sua população de pacientes.

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Recomenda-se realizar uma calibração completa quando mudar de lote de reagente reagente e/ou de lote de **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** ou quando o controle de qualidade assim o determina.

Este método foi desenvolvido para informar %HbA1c, pelo que não devem-se informar por separado os valores de HbA1c e Hb.

O kit HbA1c enzymatic deve ser usado sempre que o valor de hemoglobina do paciente esteja dentro da faixa 9-21 g/dL. Não utilizar este método para valores fora da faixa.

Para preservar a integridade dos reagentes deve evitar-se todo tipo de contaminação, empregando para a medição unicamente micropipetas perfeitamente limpas e secas.

### PERFORMANCE

**a) Reprodutibilidade:** fora avaliada a través do protocolo EP5-A da CLSI. Para isso foram processadas em Wiener lab CT600I, 3 amostras com diferentes níveis de HbA1c e obtiveram-se os seguintes resultados:

#### Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
5,39%	0,04%	0,72%
10,89%	0,06%	0,56%
12,11%	0,09%	0,71%

#### Precisão total

Nível	D.P.	C.V.
5,39%	0,07%	1,32%
10,89%	0,09%	0,82%
12,11%	0,19%	1,54%

**b) Limite de detecção:** 4% (%HbA1c).

**c) Linearidade:** **HbA1c enzymatic** possui uma faixa linear entre 4-14%. Amostras com valores superiores a 14% não devem ser diluídas e analisadas novamente. Os resultados devem ser informados como maiores a 14% (> 14%).

### APRESENTAÇÃO

1 x 18 mL Reagente A1  
1 x 8 mL Reagente A2  
1 x 12 mL Reagente B  
(Cód. 1999735)

1 x 36 mL Reagente A1  
1 x 16 mL Reagente A2  
2 x 12 mL Reagente B  
(Cód. 1009621)

1 x 36 mL Reagente A1  
1 x 16 mL Reagente A2  
2 x 12 mL Reagente B  
(Cód. 1009929)\*

Wiener lab. fornece separadamente:

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer:** 1 x 50 mL (Cód.1999729)

### REFERÊNCIAS

- Rahbar, S. - Clin. Chim. Acta 22:296 (1968).
- Bunn, H. et al - Science 200:21 (1978).
- Goldstein, D. et al - Diabetes Care 17:938 (1994).
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. N. Engl. J. Med. 329:977 (1993).
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group - Lancet 352:837 (1998).
- Weykamp C.W. et al - Clin. Chem. 41:82 (1995).
- Sacks, D. - Clin. Chem. 49:1245 (2003).
- Martina, W. et al - Clin. Chem. 39:2259 (1993).
- Karl, J. et al - Klin. Lab. 39:991 (1993).
- American Diabetes Association - Diabetes Care [Supl] 24/1(2001).
- John, G. - Clin. Chem. Lab. Med. 41:1199 (2003).
- Jeppsson, J. et al - Clin. Chem. Lab. Med. 40:78 (2002).
- Jarausch, J. et al - Clin. Chem. 42:116 (Abstract 094) (1996).
- Junge, W. et al - Poster presentation 18th International Diabetes Federation Congress, Paris 2003.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5ª Ed.) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.
- Young D.S. - "Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 4th ed., 2001.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) Protocols EP15-A, 1999 / EP17-A, 2004.

### SÍMBOLOS

 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Conteúdo

 Número de lote

 Elaborado por:

 Consultar as instruções de uso

 Número de catálogo



# HbA1c

*enzymatic*

Enzymatic method for HbA1c determination in whole blood

## SUMMARY

Diabetes mellitus is a chronic disease which includes a series of carbohydrate metabolism disorders that produce a common manifestation: hyperglycemia.

Monitoring blood glucose levels prevents the occurrence of acute complications and reduces the risk of long-term complications of the disease (retinopathy, neuropathy, nephropathy and cardiovascular diseases).

The relationship between the development and progression of microvascular complications and glycemic control has long been debated, partly due to inadequate methods to perform a retrospective glycemic control. Traditional blood glucose and urine monitoring methods have limited value for this purpose and was only after the development of glycosylated or glycated proteins assays when an objective and accurate knowledge of the long-term glycemic state was attained.

Glycohemoglobins also called glycosylated or glycated hemoglobins, were first described by Rahbar in 1968 as "diabetic hemoglobins". Their production depends on blood glucose concentration and occurs by post-translational, non-enzymatic mechanism called glycation, wherein glucose gets attached to the amino groups of the hemoglobin (Hb) molecules. The glycation of the N-terminal amino acids of the  $\alpha$  and  $\beta$  chains as well as the  $\epsilon$ -amino groups of lysine residues in hemoglobin molecules, result in a variety of glycated hemoglobins, including HbA1c, which is glycosylated in the N-terminal valine of the  $\beta$ -chain.

%HbA1c levels are proportional to blood glucose concentration during the last 6-8 weeks. Therefore, %HbA1c determination provides much more reliable information for long-term glucose monitoring.

## PRINCIPLE

**HbA1c enzymatic** is an enzymatic method in which lysed whole blood samples are subjected to protein digestion by a protease. This process releases amino acids, including glycated valines of hemoglobin beta chains. The glycated valines act as substrates of the enzyme fructosil valine oxidase (FVO). This enzyme specifically cleaves N-terminal valines and generates hydrogen peroxide which is quantified in a reaction catalyzed by peroxidase (POD) in chromogen presence. A separate measurement of total hemoglobin (Hb) is not required.

The concentration of HbA1c is directly expressed as %HbA1c.

## PROVIDED REAGENTS

**A<sub>1</sub>. Reagent A<sub>1</sub>:** 5 mM Good's buffer, pH 7.0, 0.5% Triton X-100, 4 KU/mL proteases.

**A<sub>2</sub>. Reagent A<sub>2</sub>:** 1 mM Good's buffer pH 6.3.

**B. Reagent B:** 15 mM TRIS buffer, pH 8.0, FVO > 10 U/mL, 90 U/mL POD, 0.8 mM chromogen.

## NON-PROVIDED REAGENTS

- Wiener lab's **HbA1c enzymatic Lysis Buffer**.
- Wiener lab's **HbA1c enzymatic Control**.
- Wiener lab's **HbA1c enzymatic Calibrator**.
- Demineralized water.

## INSTRUCTIONS FOR USE

**Reagents A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> and B:** ready to use for analyzers capable of working with three reagents.

For analyzers that work with two reagents premix A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> reagents in a 7:3 ratio, respectively. Mix by inversion and let stand at 2-10°C for at least 12 hours prior to use.

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer:** ready to use.

## WARNING

Provided Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

A<sub>2</sub> and B Reagents are photosensitive. Store in dark place. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

All reagents and samples should be discarded according to current regulations.

## STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents are stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Do not freeze.

**Reagents A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> and B:** once opened, store the reagents tightly capped at 2-10°C. Do not freeze.

**Premixed reagents A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub>** are stable for up to 4 weeks at 2-10°C

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer:** stable at 2-10°C until the expiration date stated on the label. Avoid contamination (do not insert pipettes or other elements). Close the bottle after use.

## SAMPLE

Anticoagulated whole blood

**a) Collection:** obtain in the usual way.

**b) Additives:** is recommended the use of EDTA (**Anticoagulate W** from Wiener lab) as anticoagulant.

**c) Known interfering substances:** no interference is observed with conjugated and unconjugated bilirubin up to 15 mg/dL, triglycerides up to 2000 mg/dL, ascorbic acid up to 25 mg/dL, glucose up to 4000 mg/dL, uric acid up to 20 mg/dL and urea up to 100 mg/dL.

The %HbA1c values obtained should be interpreted care

fully in those conditions or situations that alter the half-life of erythrocytes, such as hemolytic anemia, ferropenic anemia, transfusions, hemorrhage, etc.

Refer to Young, D.S. in references for drugs' effect on the present method.

**d) Stability and storage instructions:** the sample is stable for up to 3 days at room temperature (15-25°C), and for up to 14 days at 2-10°C.

#### SAMPLE PREPARATION

Before use, bring **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** to room temperature. Homogenize the blood sample by repeated inversion until a full suspension is obtained, avoiding foam formation. In a Kahn or hemolysis tube, add:

**HbA1c enzymatic Lysis buffer** 250 uL

**Sample** 20 uL

Mix, stirring by repeated inversion or employ vortex. Avoid foaming. Incubate at room temperature (15-25°C) for at least 10 minutes to ensure complete lysis of erythrocytes. Hemolyzed sample can be used after obtaining a dark red, limpid solution, free from particles in suspension. Calibrators and controls should be processed in the same way as patient samples.

**Stability of hemolyzed samples:** stable for up to 4 hours at room temperature (<25°C).

#### REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Automated analyzer.
- Micropipettes and pipettes for measuring stated volumes.
- Kahn or hemolysis tube.

#### ASSAY CONDITIONS

**General parameters for automatic analyzers capable of working with 3 reagents:**

**HbA1c enzymatic** is an endpoint method and the first reading point is immediately prior to the addition of reagent B.

Test name	HbA1c enzymatic
Reaction type	Endpoint
Primary wavelength	700 nm
Secondary wavelength	800 nm
Temperature	37°C
Reagent A <sub>1</sub> volume	112 uL
Sample volume	25 uL
Incubation	120 seconds
Reagent A <sub>2</sub> volume	48 uL
Incubation	300 seconds
Reagent B volume	70 uL
Incubation	180 seconds
Calibration	2 points
Calibrators	1 and 2

**General parameters for automatic analyzers capable of working with 2 reagents:**

**HbA1c enzymatic** is an endpoint method and the first read-

ing point is immediately prior to the addition of reagent B. Premix reagents A1 and A2 as described in the reagent preparation section.

Test name	HbA1c enzymatic
Reaction type	Endpoint
Primary wavelength	700 nm
Secondary wavelength	800 nm
Temperature	37°C
Reagent A <sub>1,2</sub> volume	160 uL
Sample volume	25 uL
Incubation	300 seconds
Reagent B volume	70 uL
Incubation	180 seconds
Calibration	2 points
Calibrators	1 and 2

Sample and reagent volumes may proportionally change, without altering the calculation factors.

Request applications for the analyzers marketed by Wiener lab. The applications not provided by Wiener lab. must be validated.

#### INTERPRETATION OF RESULTS

%HbA1c values are expressed directly according to the National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) and the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). The results according to DCCT/NGSP (%) may be converted to IFCC (%) using the following formulation:  

$$\text{IFCC (\%)} = [\text{NGSP (\%)} - 2.15] / 0.915$$

#### QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab's **HbA1c enzymatic Control**.

Controls require pretreatment with **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** reagent in the same way as calibrators and patient samples.

#### REFERENCE VALUES

People with healthy metabolism, according to DCCT/NGSP: 4.8-5.9% HbA1c

Based on studies of DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) levels higher than 7% HbA1c are considered associated to an increased risk of having chronic complications. It is generally recommended that each laboratory establish its own reference intervals for its patient population.

#### PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

It is recommended to perform a complete calibration, when changing reagent lot and/or **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** lot, or when suggested by Quality Control. This method was designed to report %HbA1c, therefore they should not be reported separately from HbA1c and Hb values.

The HbA1c enzymatic kit should be used whenever the patient's hemoglobin level is within the range 9-21 g/dL. Do not use this method for Hb values outside this range.

To preserve reagents integrity, avoid all forms of contamination, only using perfectly clean and dry micropipettes for measurement.

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** was assessed using EP15-A protocol

from CLSI. Three samples with different HbA1c levels were processed using Wiener lab CT600i and the following results were obtained:

#### Intra-assay precision

Level	S.D.	C.V.
5.39 %	0.04 %	0.72 %
10.89 %	0.06 %	0.56 %
12.11 %	0.09 %	0.71 %

#### Total precision

Level	S.D.	C.V.
5.39 %	0.07 %	1.32 %
10.89 %	0.09 %	0.82 %
12.11 %	0.19 %	1.54 %

**b) Detection limit:** 4 % (%HbA1c).

**c) Linearity: HbA1c enzymatic** has a linear range between 4% and 14%. Samples with values above 14% should not be diluted and retest. Results should be reported as greater than 14% (> 14%).

#### WIENER LAB PROVIDES

1 x 18 mL Reagent A<sub>1</sub>  
 1 x 8 mL Reagent A<sub>2</sub>  
 1 x 12 mL Reagent B  
 (Cat. N° 1999735)

1 x 36 mL Reagent A<sub>1</sub>  
 1 x 16 mL Reagent A<sub>2</sub>  
 2 x 12 mL Reagent B  
 (Cat. N° 1009621)

1 x 36 mL Reagent A<sub>1</sub>  
 1 x 16 mL Reagent A<sub>2</sub>  
 2 x 12 mL Reagent B  
 (Cat. N° 1009929)\*

Separately provided:

#### HbA1c enzymatic Lysis Buffer:

- 1 x 50 mL (Cat. N°1999729)

#### REFERENCES

- Rahbar, S. - Clin. Chim. Acta 22:296 (1968).
- Bunn, H. et al - Science 200:21 (1978).
- Goldstein, D. et al - Diabetes Care 17:938 (1994).
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. N. Engl. J. Med. 329:977 (1993).
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group - Lancet 352:837 (1998).
- Weykamp C.W. et al - Clin. Chem. 41:82 (1995).
- Sacks, D. - Clin. Chem. 49:1245 (2003).
- Martina, W. et al - Clin. Chem. 39:2259 (1993).
- Karl, J. et al - Klin. Lab. 39:991 (1993).
- Am. Diabetes Association - Diabetes Care [Supl] 24/1(2001).
- John, G. - Clin. Chem. Lab. Med. 41:1199 (2003).
- Jeppsson, J. et al - Clin. Chem. Lab. Med. 40:78 (2002).
- Jarasch, J. et al - Clin. Chem. 42:116 (Abstract 094) (1996).
- Junge, W. et al - Poster presentation 18th International Diabetes Federation Congress, Paris 2003.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5<sup>a</sup> Ed.) WB Saunders, 2001.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- Young D.S. - "Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) Protocols EP15-A, 1999 / EP17-A, 2004.

#### SYMBOLS



This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices



Authorized representative in the European Community



"In vitro" diagnostic medical device



Use by



Temperature limitation (store at)



Do not freeze



Contents



Batch code



Manufactured by:



Consult instructions for use



Catalog number



# HbA1c

## enzymatic

Nr kat. 1999735  
Nr kat. 1009621  
Nr kat. 1009929

Test do oznaczania HbA1c w pełnej krwi

### WSTĘP

Cukrzyca jest chorobą przewlekłą charakteryzującą się hiperglikemią. Schorzenie to jest związane z zaburzeniami metabolizmu cukrów, tłuszczów i białek. Kontrola poziomu cukru we krwi zapobiega wystąpieniu ostrych stanów i zmniejsza ryzyko przewlekłych powikłań (retinopatii, neuropatii, nefropatii oraz chorób sercowo-naczyniowych).

Związek pomiędzy rozwojem powikłań mikronangiopatycznych a kontrolą glikemii przez długi czas budził wątpliwości z powodu braku odpowiednich metod do oceny długoterminowej kontroli glikemii.

Najczęściej stosowane metody służące do pomiaru glukozy we krwi i moczu mają tutaj ograniczoną wartość.

Właściwą długoterminową ocenę stanu glikemii umożliwiło opracowanie metod oznaczania glikowanych białek.

Glikohemoglobina, zwana również hemoglobina glikozylową lub glikowaną, po raz pierwszy została opisana przez Rahbar w 1968.

Powstawanie hemoglobiny glikowanej zależy od poziomu cukru we krwi i zachodzi na drodze reakcji nieenzymatycznej, zwanej glikacją. W procesie tym glukoza jest łączona z grupami aminowymi hemoglobiny (Hb).

Istnieją różne frakcje hemoglobiny glikowanej, jednakże tylko frakcja HbA1c znalazła zastosowanie w diagnostyce cukrzycy. Powstaje ona wskutek przyłączenia cząsteczek glukozy N-końcowej grupy aminowej łańcucha  $\beta$  hemoglobiny.

% zawartość HbA1c we krwi jest proporcjonalne do stężenie glukozy we krwi podczas, dlatego pomiar HbA1c umożliwia wiarygodną ocenę monitorowania długotrwałego wyrównania glikemii u chorych na cukrzycę.

### ZASADA DZIAŁANIA

**HbA1c enzymatic** jest oparty o metodę, w której krew pełna po działaniu odczynnika lizującego jest poddawana trawieniu przez proteazę. Proces ten powoduje uwolnienie aminokwasów, między innymi glikowanej waliny z łańcucha  $\beta$  hemoglobiny. Glikowana walina jest następnie substratem dla enzymu oksydazy fruktozowaliny (FVO). Enzym ten specyficznie atakuje aminokwasy waliny na N końcu hemoglobiny i powoduje powstanie nadtlenu wodoru, który jest mierzony w reakcji katalizowanej przez peroksydazę (POD), w obecności chromogenu.

Stężenie HbA1c jest bezpośrednio wyrażane jako % HbA1c.

### DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A<sub>1</sub>. Odczynnik A<sub>1</sub>:** bufor Good's 5 mM (pH 7.0), Triton X-100, proteaza 4 KU/ml.

**A<sub>2</sub>. Odczynnik A<sub>2</sub>:** bufor Good's 1 mM (pH 6.3).

**B. Odczynnik B:** bufor TRIS 15 mM (pH 8.0), FVO powyżej 10 U/ml, peroksydaza (POD) 90 U/ml, chromogen 0,8 mM.

### NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Wiener lab. **HbA1c enzymatic Lysis Buffer**.

- Wiener lab. **HbA1c enzymatic Control**.

- Wiener lab. **HbA1c enzymatic Calibrator**.

- Woda destylowana.

### INSTRUKCJA UŻYCIA

**Odczynniki A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, i B:** gotowe do użycia w przypadku analizatorów biochemicznych zdolnych do pobierania trzech różnych odczynników.

W przypadku analizatorów biochemicznych zdolnych do pobierania dwóch różnych odczynników, należy zmieszać odczynnik A<sub>1</sub> i A<sub>2</sub> w stosunku 7:3, wymieszać przez odwracanie i pozostawić co najmniej na 12 godzin przed użyciem, w temperaturze od 2 do 10°C.

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer:** jest gotowy do użycia.

### OSTRZEŻENIA

Odczynniki tylko do diagnostyki "in vitro".

Przy pracy z odczynnikiem stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych procedur w laboratoriach klinicznych.

Odpady należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami.

Odczynniki A i B są wrażliwe na światło, należy przechowywać w ciemnym miejscu.

### TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki są trwałe jeśli są przechowywane w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

**Odczynniki A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> oraz B<sub>1</sub>** po otwarciu, przechowywać szczelnie zamknięte, w temperaturze 2-10°C. Nie zamrażać. **Zmieszany odczynnik A<sub>1</sub> + A<sub>2</sub>** jest trwały do 4 tygodni, jeśli jest przechowywany w temperaturze od 2 do 10°C.

**HbA1c enzymatic Lysis Buffer** jest trwały, jeśli jest przechowywany w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Unikać zanieczyszczenia. Zamykać butelkę po użyciu.

## MATERIAŁ BADANY

Krew pełna pobrana na antykoagulant.

**a) Pobranie:** pobrać krew w klasyczny sposób.

**b) Substancje dodatkowe:** zaleca się heparynę lub EDTA (**Anticoagulate W** Wiener lab.) jako antykoagulant.

**c) Znane interakcje:** bilirubina (związana i niezwiązana) do 15 mg/dl, kwas askorbinowy do poziomu 25,0 mg/dl, triglicerydy do 2000,0 mg/dl, glukoza do stężenia 4000 mg/dl, kwas moczowy do 20 mg/dl, mocznik do 100 mg/dl nie mają wpływu na wynik badania.

Spadek przeżywalności czerwonych krwinek (anemia hemolityczna, ciężą bądź niedawną znaczną utratą krwi) powodują mniejszą ekspozycją czerwonych krwinek na glukozę i niższym stężeniem procentowym glikowanej hemoglobiny. Wyniki procentowe glikowanej hemoglobiny nie są wiarygodne u osób z chroniczną utratą krwi, powodującą zmienną długość życia erytrocytów.

Wpływ leków: patrz dane źródłowe Young D.S, pozycja w j. polskim.

**d) Trwałość i warunki przechowywania:** pobrany materiał jest stabilny przez 3 dni w temperaturze pokojowej (15-25°C), przez 14 dni w temperaturze 2-10°C.

### PRZYGOTOWANIE PRÓBKII

Odczynnik lizujący **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** Wiener lab. należy doprowadzić do temperatury pokojowej. Próbkę krwi wymieszać poprzez odwracanie aż do uzyskania jednolitej zawiesiny, unikając spienienia. Do próbki dodać:

<b>Odczynnik lizujący</b>	250 µl
<b>Materiał badany</b>	20 µl

Wymieszać zawartość próbki przy użyciu wirówki lub poprzez łagodne odwracanie, unikając spienienia. Pozostawić w temperaturze pokojowej (15-25°C) na co najmniej 10 minut, do całkowitej lizy erytrocytów. Hemolizat próbki można użyć do oznaczenia, po uzyskaniu przejrzystego, ciemno-czerwonego roztworu bez śladu drobinek w zawieszynie. Kalibratory i kontrole należy przygotowywać w ten sam sposób co próbki badane.

**Stabilność hemolizatu:** hemolizat jest trwały do 4 godzin w temperaturze pokojowej (< 25°C).

### WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczone)

- Pipety i mikropipety.
- Analizator automatyczny.
- Probówki do hemolizy lub kanna.

### WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

**Aplikacja dla analizatorów automatycznych zdolnych do pobierania trzech różnych odczynników:**

**HbA1c enzymatic** jest metodą punktu końcowego a pierwszy pomiar jest bezpośrednio przed dodaniem odczynnika B.

Nazwa testu	HbA1c enzymatic
Typ reakcji	Punktu końcowego
Pierwsza długość fali	700 nm
Druga długość fali	800 nm
Temperatura	37°C
Odczynnika A1	112 µl
Materiał badany	25 µl
Inkubacja	120 sekund
Odczynnika A2	48 µl
Inkubacja	300 sekund
Odczynnika B	70 µl
Inkubacja	180 sekund
Kalibracja	Dwu punktowa
Kalibratory	1 i 2

### Aplikacja dla analizatorów automatycznych zdolnych do pobierania dwóch różnych odczynników:

**HbA1c enzymatic** jest metodą punktu końcowego a pierwszy pomiar jest bezpośrednio przed dodaniem odczynnika B. Należy wcześniej zmieszać odczynnik A<sub>1</sub> z A<sub>2</sub> zgodnie z informacją zawartą w punkcie.

Nazwa testu	HbA1c enzymatic
Typ reakcji	Punktu końcowego
Pierwsza długość fali	700 nm
Druga długość fali	800 nm
Temperatura	37°C
Odczynnika A1-2	160 µl
Materiał badany	25 µl
Inkubacja	300 sekund
Odczynnika B	70 µl
Inkubacja	180 sekund
Kalibracja	Dwu punktowa
Kalibratory	1 i 2

Objętości próbki i odczynnika można zmieniać proporcjonalnie bez zmian współczynnika do obliczeń.

Zamieszczone aplikacje zostały opracowane przez Wiener lab. Aplikacje z innych źródeł należy sprawdzić.

### INTERPRETACJA WYNIKÓW

Podawanie wartości jako % HbA1c jest zgodne z ustaleniami National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) and the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). Wyniki wyrażone zgodnie z NGSP i DCCT (%) można przeliczyć na IFCC (%) wg wzoru.  
IFCC (%)=[NGSP (%) - 2.15 ]/0.915

## METODA KONTROLI JAKOŚCI

Wiener lab **HbA1c enzymatic Control**.

Materiał kontrolny wymaga przygotowania wstępnego z odczynnikami lizującym **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** podobnie jak próbki wzorcowe i próbki od pacjenta.

## ZAKRES WARTOŚCI REFERENCYJNYCH

Dorośli (DCCT/NGSP): 4.8-5.9% HbA1c.

W oparciu o badania DCCT %HbA1c wyższy od 7% jest związany z podwyższonym ryzykiem przewlekłych powikłań. Zaleca się aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości referencyjnych.

## OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Zaleca się wykonywanie pełnej kalibracji gdy zmienia się seria odczynnika lub **HbA1c enzymatic Lysis Buffer** lub z powodu wyniku kontroli poza dopuszczalnym zakresem.

Metoda została opracowana do podawania wyników wyrażonych w % HbA1c jakkolwiek należy jednocześnie podawać wartości HbA1c i Hb.

Odczynnik **HbA1c enzymatic** należy stosować jeśli wartości hemoglobiny pacjentów są w zakresie 9-21 g/dl powyżej tych wartości użycie tej metody jest niedopuszczalne.

Aby zapobiec kontaminacji odczynników należy stosować czyste i suche końcówki do pomiaru.

## CHARAKTERYSTYKA TESTU

**a) Powtarzalność:** badania przeprowadzono zgodnie z wytycznymi zawartymi w dokumencie EP15-A NCCLS na aparacie Wiener lab. CT 600 i:

### Precyzyja w trakcie badania

Poziom	S.D.	C.V.
5.39 %	0.04 %	0.72 %
10.89 %	0.06 %	0.56 %
12.11 %	0.09 %	0.71 %

### Precyzyja całkowita

Poziom	S.D.	C.V.
5.39 %	0.07 %	1.32 %
10.89 %	0.09 %	0.82 %
12.11 %	0.19 %	1.54 %

**b) Granice wykrywalności:** 4 % (% HbA1c).

**c) Zakres pomiarowy:** od 4 do 14 %. Jeżeli stężenie HbA1c w próbce wynosi poniżej 14 % próbki nie należy rozcieńczać i ponownie oznaczyć. Należy podać wynik: powyżej 14% (> 14 %).

## WIENERLAB. DOSTARCZA

1 x 18 ml odczynnik A<sub>1</sub>  
1 x 8 ml odczynnik A<sub>2</sub>  
1 x 12 ml odczynnik B  
(Nr kat. 1999735)

1 x 36 ml odczynnik A<sub>1</sub>  
1 x 16 ml odczynnik A<sub>2</sub>  
2 x 12 ml odczynnik B  
(Nr kat. 1009621)

1 x 36 ml odczynnik A<sub>1</sub>  
1 x 16 ml odczynnik A<sub>2</sub>  
2 x 12 ml odczynnik B  
(Nr kat. 1009929)

Oddzielnie dostarcza:

## HbA1c enzymatic Lysis Buffer:

- 1 x 50 ml (Nr kat.1999729)

## ŹRÓDŁA

- Rahbar, S. - Clin. Chim. Acta 22:296 (1968).
- Bunn, H. et al - Science 200:21 (1978).
- Goldstein, D. et al - Diabetes Care 17:938 (1994).
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. - N. Engl. J. Med. 329:977 (1993).
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group - Lancet 352:837 (1998).
- Sacks, D. et al - Clin. Chem. 48:436 (2002).
- Weykamp C.W. et al - Clin. Chem. 41:82 (1995).
- Sacks, D. - Clin. Chem. 49:1245 (2003).
- Martina, W. et al - Clin. Chem. 39:2259 (1993).
- Karl, J. et al - Klin. Lab. 39:991 (1993).
- American Diabetes Association - Diabetes Care [Suppl] 24/1 (2001).
- John, G. - Clin. Chem. Lab. Med. 41:1199 (2003).
- Jeppsson, J. et al - Clin. Chem. Lab. Med. 40:78 (2002).
- Jarausch, J. et al - Clin. Chem. 42:116 (Abstract 094) (1996).
- Junge, W. et al - Poster presentation 18th International Diabetes Federation Congress, Paris 2003.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5<sup>a</sup> Ed.) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.
- Young D.S. - "Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 4th ed., 2001.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS).
- Protocols EP5-A, 1999 / EP17-A, 2004.

## Oznaczenia



Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"



Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej



Wyrób do diagnostyki "in vitro"



Użyć przed



Ograniczenie dopuszczalnych temperatur



Nie zamrażać



Zawartość



Numer serii



Wytwórca



Przed użyciem zapoznać się z instrukcją



Numer katalogowy

Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Tec.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
PM-1102-71



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina