

HbA1c

mindray

Hemoglobin A1c Kit (Enzymatic Assay Method)



Order Information

Cat. No.	Package size
105-002165-00	R(Hb): 1×30 mL + R1(HbA1c): 1×30 mL + R2(HbA1c): 1×12 mL + R0: 1×150 mL
105-002166-00	R(Hb): 1×40 mL + R1(HbA1c): 1×40 mL + R2(HbA1c): 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-002167-00	R(Hb): 2×40 mL + R1(HbA1c): 2×40 mL + R2(HbA1c): 2×15 mL + R0: 2×150 mL
105-009338-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 3×40 mL
105-005737-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-005738-00	R1: 2×40 mL + R2: 2×15 mL + R0: 3×58 mL

Intended Purpose

In vitro test for the quantitative determination of Hemoglobin A1c (HbA1c) concentration in human whole blood on Mindray BS series chemistry analyzers. It is intended to be used for diagnosis and monitoring therapeutic effect of diabetes.

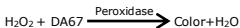
Summary¹⁻⁷

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. The approximate relationship between HbA1c and mean blood glucose value during the preceding 2 to 3 months has been analyzed by several studies.

HbA1c

Assay Principle

Enzymatic Assay Method



In the first reaction, the concentration of hemoglobin is measured at absorbance of fixed wavelength, and simultaneously the fructosyl dipeptides are generated from the N-terminus amino groups of the beta-chain of HbA1c by the reaction of proteinase. In the second reaction, the reaction of Fructosyl peptide oxidase (FPOX) with fructosyl dipeptides, generated hydroperoxide allows 10-(carboxymethylaminocarbonyl)-3,7-bis (dimethyl-amino) phenothiazine sodium salt (DA67) to develop a color in the presence of peroxidase. The change in absorbance is measured for HbA1c determination. The combined assay results for hemoglobin and HbA1c are used by the system to calculate and express HbA1c%.

Reagents Components

	N,N-Dimethylformamide	<10.0 g/L
	Calcium chloride	<2.0 g/L
R(Hb)/R1(HbA1c)/R1:	Proteinase	> 500 KU/L
	DA67	0.1 mmol/L
	ProClin 300	0.05%
	Sodium azide	<0.01%
R2(HbA1c)/R2:	Peroxidase	>1500 U/L
	Fructosyl peptide oxidase	>1500 U/L
R0 (Pretreatment Solution)	NaNO ₂	1.0 g/L
	ProClin 300	0.05%

Storage and stability

Up to expiration date indicated on the label, when stored unopened at 2-8°C and protected from light.

On board in use, the reagents are stable for 28 days when refrigerated on the analyzer.

Contamination must be avoided.

Do not freeze the reagent.

- 3.Warning: For the anticoagulation tubes, the height of total sample in the tube should be no higher than 55mm and the height of centrifuged blood corpuscle should be no lower than 10mm. If not satisfied, adjust to the height of total sample and centrifuged blood corpuscle or change to the manual lysis.
- 4.Warning: Micro-sample cups and Eppendorf microfuge tube are not allowed.

■ Manual lysis

- 1.Get 25 μ L blood corpuscle from the centrifuged deposition into a sample cup or an Eppendorf microfuge tube. The blood corpuscle is easily adsorbed to the sample probe and pipette, which may cause exceed the target volume.
- 2.Add 500 μ L of Pretreatment Solution into test tube.
- 3.Close the test tube and lysis the blood by inverting 10 times or shaking for 10s on the vortex mixer.
- 4.The hemolysate can be used as working samples after 4 minutes.
- 5.The volume of blood corpuscle and Pretreatment Solution can be amplified in equal proportion if necessary.
- 6.Specimens should be tested as soon as possible after pre-analytical treatment.

■ Sample Stability

- Whole blood Stability: 8 hours at 15-25°C
7 days at 2-8°C^B
30 days at (-25)-(-15)°C
- Hemolysate Stability: 8 hours at 15-25°C
24 hours at 2-8°C

Do not freeze the whole blood samples. Sample stability claims were established by manufacturer and/or based upon references, each laboratory should establish its own sample stability criteria.

Reagent Preparation

R(Hb)/R1(HbA1c)/R1, R2(HbA1c)/R2 and Pretreatment Solution are ready to use.

Please perform scheduled maintenance and standard operation including calibration and analysis to assure the performance of measurement system.

Materials required but not provided

- 1.General laboratory materials: distilled/deionized water.
- 2.Calibrator and Control: Please check the section of reagent instruction of Calibration and Quality Control.
- 3.Mindray BS series chemistry analyzers and General laboratory equipment.

HbA1c

Assay procedure

■ Non-twin test

The Hb was tested by using reagent R(Hb), and the HbA1c was tested by using reagent R1 (HbA1c)/R2(HbA1c).

■ Twin test

The Hb and HbA1c were simultaneously tested by using reagent R1/R2.

1.Hb

Parameters Item	BS-800 chemistry analyzers
Assay type	Endpoint
Wavelength (Primary/Secondary)	505/800 nm
Reaction direction	Increase
R (Hb)/R1(HbA1c)	180 μ L
incubate at 37°C for 1 min, read the absorbance A1, then add:	
Sample or Calibrator	12 μ L
Mix thoroughly, incubate at 37°C for 5 min, read the absorbance A2, Then calculate $\Delta A_{\text{Hb-calibrator}}=(A2-A1)$ calibrator, $\Delta A_{\text{Hb-sample}}=(A2-A1)$ sample	

2.HbA1c

Parameters Item	BS-800 chemistry analyzers
Assay type	Endpoint
Wavelength (Primary/Secondary)	660/800 nm
Reaction direction	Increase
R1 (HbA1c)/R1	180 μ L
Sample or Calibrator	12 μ L
Mix, incubate at 37°C for 5 min, read the absorbance A1, then add:	
R2 (HbA1c)/R2	60 μ L
Mix thoroughly, incubate at 37°C for 5 min, read the absorbance A2, Then calculate $\Delta A_{\text{HbA1c-calibrator}}=(A2-A1)$ calibrator, $\Delta A_{\text{HbA1c-sample}}=(A2 - A1)$ sample	

3.HbA1c%

HbA1c% is the most common form in the reports. Report results of hemoglobin A1c in mmol/mol (IFCC) or percent (NGSP):

Protocol 1 according to IFCC: $\text{HbA1c (mmol/mol)} = \text{HbA1c/Hb} \times 1000$

Protocol 2 according to NGSP/DCCT: $\text{HbA1c(\%)} = 91.5 \times \text{HbA1c / Hb} + 2.15$

Parameters may vary in different chemistry analyzers, may adjust in proportion if necessary. For Mindray BS series chemistry analyzers, Reagent Parameters is available on request. Please refer to the appropriate operation manual for the analyzers.

Calibration

1. It is recommended to use the Mindray Calibrator (HbA1c Calibrator: 105-003680-00 or other suitable calibrators) for two-point calibration. Traceability of the HbA1c Calibrator can refer to the calibrator instructions for use of Mindray Company.
2. Calibration frequency
Calibration is stable for approximately 28 days on BS-800 chemistry analyzers. The calibration stability may vary on different instruments, each laboratory should set a calibration frequency in the instrument parameters appropriate to their usage pattern.
Recalibration may be necessary when the following occur:
 - As changed reagent lot.
 - As required following quality control procedures or out of control.
 - As executes specific maintenance or troubleshooting procedure of chemistry analyzers.
3. The calibrator values are lot-specific with the matched models listed in the value sheet.

Quality control

1. It is recommended to use the Mindray Control (HbA1c Control: 105-002140-00, 105-002138-00 or other suitable controls) to verify the performance of the measurement procedure; other suitable control material can be used in addition.
2. Two levels of control material are recommended to analyze each batch of samples. In addition, the control should be run with each new calibration, with each new reagent cartridge, and after specific maintenance or trouble shooting procedures as detailed in the appropriate system manual.
3. Each laboratory should establish its own internal quality control scheme and procedures for corrective action if control doesn't recover within the acceptable tolerances.

Calculation

$C_{\text{sample}} = (\Delta A_{\text{sample}} / \Delta A_{\text{calibrator}}) \times C_{\text{calibrator}}$

The BS series chemistry analyzer detects the change of absorbance(ΔA) and calculates the Hb/HbA1c concentration of each sample automatically after calibration.

The system calculates HbA1c and Hb results in $\mu\text{mol/L}$ (SI units). To convert the results to g/dL (common units), use the following equation:

Conversion factor: $\mu\text{mol/L} \times 0.1354 = \text{g/dL}$.

Expected values⁹

	Sample Type	S.I. Units
Whole blood	According to IFCC	20.20-42.06 mmol/mol
	According to NGSP/DCCT	4.0%-6.0%

The expected value is provided from reference, and Mindray has verified it by 60 samples of people from southern China.

Each laboratory should establish its own reference intervals based upon its particular locale and population characteristics since expected values may vary with geography, race, sex and age.

Performance Characteristics

■ Analytical Sensitivity

The Hemoglobin A1c Kit has an analytical sensitivity of 60 $\mu\text{mol/L}$ for Hb, 2 $\mu\text{mol/L}$ for HbA1c on BS-400. Analytical sensitivity is defined as the lowest concentration of analyte that can be distinguished from a sample that contains no analyte. It is calculated as the value lying 3 standard deviations above that of the mean from 20 replicates of an analyte-free sample.

■ Measuring range

The Mindray BS series systems provide the following linearity range:

Sample Type	S.I. Units
Whole blood	3%-16% (NGSP/DCCT)

A high concentration HbA1c sample (approximately 16%) is mixed with a low concentration sample (<3%) at different ratios, generating a series of dilutions. The HbA1c concentration of each dilution is determined using Mindray System, the linearity range is demonstrated with the correlation coefficient $r \geq 0.9900$. The reportable range is 3%-16% (NGSP/DCCT), as the ratio can't be solved through dilution.

■ Precision

Precision was determined by following CLSI Approved Guideline EP05-A3¹⁰, each sample was assayed 2 times per run, 2 runs per day, a total 20 of days. The precision data (calculated according to NGSP/DCCT) of controls on BS-400 are summarized in the following tables*.

- 3.The proportion of whole blood sample and Pretreatment Solution is 10ul:200ul.
- 4.Warning: For the anticoagulation tubes, the height of total sample in the tube should be into the range of 10mm-55mm. If out of the range, adjust to the height of sample or change to the manual lysis.
- 5.Warning: Micro-sample cups and Eppendorf microfuge tube are not allowed.

■ Manual lysis

- 1.Mix all specimens thoroughly by low speed vortexing or gently inverting 10 times.
- 2.Get 10 μ L whole blood into a sample cup or an Eppendorf microfuge tube. The whole blood is easily adsorbed to the sample probe and pipette, which may cause exceed the target volume.
- 3.Add 200 μ L of Pretreatment Solution into test tube.
- 4.Close the test tube and lysis the blood by inverting 10 times or shaking for 10s on the vortex mixer.
- 5.The hemolysate can be used as working samples after 4 minutes.
- 6.The volume of whole blood and Pretreatment Solution can be amplified in equal proportion if necessary.
- 7.Specimens should be tested as soon as possible after pre-analytical treatment.

■ Sample Stability

- Whole blood Stability: 8 hours at 15-25°C
- 7 days at 2-8°C⁸
- 30 days at (-25)-(-15) °C
- Hemolysate Stability: 8 hours at 15-25°C
- 24 hours at 2-8°C

Sample stability claims were established by manufacturer and/or based upon references, each laboratory should establish its own sample stability criteria.

Materials required but not provided

- 1.Mindray chemistry analyzers BS-600M or others which have the function of HbA1c assayed using whole blood samples without Centrifugation and General laboratory equipment.

Assay procedure

Twin test: The Hb and HbA1c concentration were test by using reagent R1/R2.

HbA1c

1.Hb

Parameters Item	BS-600M chemistry analyzers
Assay type	Endpoint
Wavelength (Primary/Secondary)	505/800 nm
Reaction direction	Increase
R1	90 μ L
incubate at 37°C for 1 min, read the absorbance A1, then add:	
Sample or Calibrator	8 μ L
Mix thoroughly, incubate at 37°C for 5 min, read the absorbance A2, Then calculate $\Delta A_{\text{Hb-calibrator}}=(A2-A1)$ calibrator, $\Delta A_{\text{Hb-sample}}=(A2-A1)$ sample	

2.HbA1c

Parameters Item	BS-600M chemistry analyzers
Assay type	Endpoint
Wavelength (Primary/Secondary)	660/800 nm
Reaction direction	Increase
R1	90 μ L
Sample or Calibrator	8 μ L
Mix, incubate at 37°C for 5 min, read the absorbance A1, then add:	
R2	30 μ L
Mix thoroughly, incubate at 37°C for 5 min, read the absorbance A2, Then calculate $\Delta A_{\text{HbA1c-calibrator}}=(A2-A1)$ calibrator, $\Delta A_{\text{HbA1c-sample}}=(A2 -A1)$ sample	

3.HbA1c%

HbA1c% is the most common form in the reports. Report results of hemoglobin A1c in mmol/mol (IFCC) or percent (NGSP):

Protocol 1 according to IFCC: $\text{HbA1c (mmol/mol)} = \text{HbA1c/Hb} \times 1000$

Protocol 2 according to NGSP/DCCT: $\text{HbA1c(\%)} = 91.5 \times \text{HbA1c /Hb} + 2.15$

Parameters may vary in different chemistry analyzers, may adjust in proportion if necessary. For Mindray BS series chemistry analyzers, Reagent Parameters is available on request. Please refer to the appropriate operation manual for the analyzers.

“Calibration” and “Quality control” refer to the section of “HbA1c assayed using whole blood samples with Centrifugation”.

Calculation

$C \text{ sample} = (\Delta A \text{ sample} / \Delta A \text{ calibrator}) \times C \text{ calibrator}$.

The BS series chemistry analyzer detects the change of absorbance(ΔA) and calculates the Hb/HbA1c concentration of each sample automatically after calibration.

The system calculates HbA1c and Hb results in $\mu\text{mol/L}$ (SI units). To convert the results to g/dL (common units), use the following equation:

Conversion factor: $\mu\text{mol/L} \times 0.1354 = \text{g/dL}$.

Dilution

If the value of sample exceeds 300 $\mu\text{mol/L}$ (Hb) or 39 $\mu\text{mol/L}$ (HbA1c), the sample should be diluted with Pretreatment Solution (e.g. 1+1) and rerun; the result of Hb and HbA1c should be multiplied by 2. No conversion factor is required for the mmol/mol HbA1c (IFCC) and % HbA1c (DCCT/NGSP) result.

Expected values⁹

	Sample Type	S.I. Units
Whole blood	According to IFCC	20.20-42.06 mmol/mol
	According to NGSP/DCCT	4.0%-6.0%

The expected value is provided from reference, and Mindray has verified it by 60 samples of people from southern China.

Each laboratory should establish its own reference intervals based upon its particular locale and population characteristics since expected values may vary with geography, race, sex and age.

Performance Characteristics

■ Analytical Sensitivity

The Limit of Blank (LoB) and Limit of detection (LoD) were determined on BS-600M in accordance with CLSI Approved Guideline EP17-A2.

Hb:	HbA1c:	HbA1c%(NGSP/DCCT):
LoB=4.55 $\mu\text{mol/L}$	LoB=1.12 $\mu\text{mol/L}$	LoB=2.97%
LoD=4.94 $\mu\text{mol/L}$	LoD=1.17 $\mu\text{mol/L}$	LoD=3.01%

The Limit of Blank is the 95th percentile value from $n \geq 60$ measurements of one or several analyte-free samples over several independent series. The Limit of Blank corresponds to the concentration below which analyte-free samples are found with a probability of 95%.

The Limit of Detection is determined based on the Limit of Blank and the standard deviation of low concentration samples. The Limit of Detection corresponds to the lowest analyte concentration which can be detected (value above the Limit of Blank with a probability of 95%).

■ Measuring range

The Mindray BS series systems provide the following linearity range:

Sample Type	S.I. Units	
	HbA1c%	3%-16% (NGSP/DCCT)
Whole blood	HbA1c	2-39 $\mu\text{mol/L}$
	Hb	60-300 $\mu\text{mol/L}$

HbA1c%: A high concentration HbA1c% sample (approximately 16%) is mixed with a low concentration sample (<3%) at different ratios, generating a series of dilutions. The HbA1c% concentration of each dilution is determined using Mindray System, the linearity range is demonstrated with the correlation coefficient $r \geq 0.9900$.

HbA1c (Hb concentration $\geq 100 \mu\text{mol/L}$): A high concentration HbA1c sample (approximately 39 $\mu\text{mol/L}$) is mixed with a low concentration sample (<2 $\mu\text{mol/L}$) at different ratios, generating a series of dilutions. The HbA1c concentration of each dilution is determined using Mindray System, the linearity range is demonstrated with the correlation coefficient $r \geq 0.9900$.

Hb: A high concentration Hb sample (approximately 300 $\mu\text{mol/L}$) is mixed with a low concentration sample (<60 $\mu\text{mol/L}$) at different ratios, generating a series of dilutions. The Hb concentration of each dilution is determined using Mindray System, the linearity range is demonstrated with the correlation coefficient $r \geq 0.9900$.

■ Precision

Precision was determined by following CLSI Approved Guideline EP05-A3¹⁰, each sample was assayed 2 times per run, 2 runs per day, for a total 20 days. The precision data (calculated according to NGSP/DCCT) of controls and human samples on BS-600M are summarized below*.

Specimen Type (N=80)	Mean (%)	Repeatability		Within-Lab	
		SD (%)	CV %	SD (%)	CV %
Control N	5.16	0.02	0.35	0.02	0.44
Contro P	10.28	0.02	0.18	0.03	0.29
Whole blood 1	5.47	0.02	0.32	0.03	0.54
Whole blood 2	6.63	0.02	0.33	0.03	0.45
Whole blood 3	9.32	0.02	0.22	0.04	0.46
Whole blood 4	11.38	0.03	0.27	0.05	0.41

*Representative, results in different instruments, laboratories may vary.

■ Analytical Specificity

1. Endogenous substances and Durgs

The samples with different concentration interfering substance were prepared by addition of interferent to human sample pools, and recovers are within $\pm 5.0\%$ of the corresponding control value to be considered as no significant interference.

No significant interference was observed when the following substances were tested for interference with this methodology. The data (calculated according to NGSP/DCCT) of interference studies on BS-600M are summarized below*.

Interfering Substance	Interferent Concentration	Analyte Concentration	Relative Deviation
Ascorbic acid	3 mg/dL	6.64%	+0.41%
Conjugated bilirubin	15 mg/dL	6.63%	-2.06%
Unconjugated bilirubin	10 mg/dL	6.66%	-2.19%
Triglycerides	2000 mg/dL	6.67%	-0.10%
Melbine	5.1 mg/dL	6.61%	-0.40%
Ibuprofen	50 mg/dL	6.59%	+0.15%
Acarbose	50 mg/dL	6.58%	-0.08%
Panadol	200 μ g/mL	6.59%	-3.07%
Aspirin	50 mg/dL	6.56%	0.00%

*Representative data, results in different instruments, laboratories may vary.

2. Hemoglobin Derivatives

The samples with different type of hemoglobin derivatives were obtained by addition of potential interferent to human sample pools, and recovers are within $\pm 5.0\%$ of the corresponding control value to be considered as no significant interference.


No significant interference was observed when the following substances were added with this methodology. The data (calculated according to NGSP/DCCT) of interference studies on BS-600M are summarized below*.

Type of Hemoglobin Derivatives	Analyte Concentration	Relative Deviation
Acetylated Hemoglobin generated by adding ≥ 50 mg/dL of Aspirin	6.50%	+0.71%
Carbamylated Hemoglobin generated by adding ≥ 10 mmol/L of Cyanate	6.61%	-1.43%
Labile Hemoglobin generated by adding ≥ 1000 mg/dL of Glucose	6.61%	-1.13%

*Representative data, results in different instruments, laboratories may vary.

Warnings and precaution

1. For in vitro diagnostic use only. For laboratory professional use.
2. 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.
3. Please take the necessary precautions for handling all laboratory reagents.
4. Please confirm the integrity of the package before use. Do not use the kits with damaged packages. The reagents avoid direct exposure to sunlight and freezing. The results can't be assured when stored at inappropriate condition.
5. If unintentionally opened before used, store the reagents tightly capped at 2-8°C and protected from light, and the stability is equally to in-use stability.
6. Do not mix reagents with different lots.
Do not use the reagents beyond the expiration date and the in-use date.
Do not mix fresh reagents with in-use reagents.
Avoid the formation of foam.
7. Instability or deterioration should be suspected if there are visible signs of leakage, precipitates or microbial growth, or if calibration or controls do not meet the insert and/or the Mindray System criteria.
8. Reliability of assay results cannot be guaranteed if the instructions in this package insert are not followed.
9. Preservative contained. Do not swallow. Avoid contact with skin and mucous membranes.
10. When the reagents accidentally enter the eyes and mouth, or contact with the skin, immediately wash with plenty of water. If necessary, visit the doctor for further medical treatment.
11. Safety data sheet is available for professional user on request.
12. Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.
13. All human material should be considered potentially infectious.
14. All identified risks have been reduced as far as possible without adversely affecting the benefit-risk ratio, and the overall residual risk is acceptable.
15. Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.
16. This kit contains components classified as follows in accordance with the Regulation (EC) No 1272/2008:

	
Danger	
H317	May cause an allergic skin reaction.
H360D	May damage the unborn child.
H412	Harmful to aquatic life with long lasting effects.
Prevention:	
P201	Obtain special instructions before use.
P280	Wear protective gloves and protective clothing.
P261	Avoid breathing mist/vapours/spray.
P273	Avoid release to the environment.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
Response:	
P308+P313	IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P362+P364	Take off contaminated clothing and wash it before reuse.
Disposal:	
P501	Dispose of contents/container to authorised hazardous or special waste collection point in accordance with any local regulation.

References

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Elsevier Saunders 2012;1441-1447.
2. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA et al. Tests of glycemia in diabetes. Diabetes Care, 1995;18:896-909.
3. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. Diabetes Care, 1994;17:938-939.
4. 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.
- Nathan DM, Kuenen J, Borg R et al. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. *Diabetes Care*, 2008; 31:1473-1478.
- Wu, Alan HB. *Tietz clinical guide to laboratory tests*. 4th ed. Elsevier Health Sciences, 2006; 480.
- Hanas R, John G, International HbA1c Consensus Committee. 2010 Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. *ClinChem Lab Med*, 2010;48:775-776.
- CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
- CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Sample; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
- Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5th ed. Washington, DC: AACC Press; 2000:3-433,3-434.

Graphical symbols

In Vitro Diagnostic
medical device



Unique device
identifier



European
Conformity



Consult Instructions
For use



Use-by
date



Authorized representative in
the European Community



Batch Code



Temperature
limit



Manufacturer



Catalogue
number



Keep away from sunlight

Indicates a medical device that needs protection from light sources

HbA1c

mindray

© 2022-2023 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. All rights Reserved

Manufacturer: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Address: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-Tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057, P. R. China

E-mail Address: service@mindray.com

Website: www.mindray.com

Tel: +86-755-81888998; **Fax:** +86-755-26582680

EC-Representative: Shanghai International Holding Corp. GmbH(Europe)

Address: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany

Tel: 0049-40-2513175; **Fax:**0049-40-255726

HbA1c

Набор для определения гемоглобина A1c (HbA1c), ферментативный метод

Информация для оформления заказа

mindray



Cat. No.	Размер упаковки
105-002165-00	R(Hb): 1×30 mL + R1(HbA1c): 1×30 mL + R2(HbA1c): 1×12 mL + R0: 1×150 mL
105-002166-00	R(Hb): 1×40 mL + R1(HbA1c): 1×40 mL + R2(HbA1c): 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-002167-00	R(Hb): 2×40 mL + R1(HbA1c): 2×40 mL + R2(HbA1c): 2×15 mL + R0: 2×150 mL
105-009338-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 3×40 mL
105-005737-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-005738-00	R1: 2×40 mL + R2: 2×15 mL + R0: 3×58 mL

Целевое назначение

Анализ *in vitro* для количественного определения концентрации Гемоглобина A1c (HbA1c) в цельной крови человека на химических анализаторах Mindray серии BS. Этот анализ не предназначен для диагностики и мониторинга терапевтического эффекта лечения диабета.

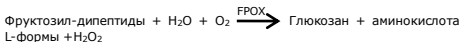
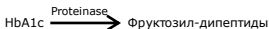
Краткая справка¹⁻⁷

Гемоглобин (Hb) состоит из четырех белковых цепей и четырех гемов и является окрашивающим в красный цвет белком, входящим в состав эритроцитов. Его основная функция — транспортировка кислорода и двуокиси углерода в крови. Каждая молекула Hb способна связать четыре молекулы кислорода. Hb состоит из разнообразных субфракций и производных. Среди этой гетерогенной группы гемоглобинов они представляют собой гликозилированные гемоглобины — субфракцию, сформированную путем прикрепления различных сахаров к молекуле Hb. HbA1c образуется в два этапа в результате неферментативной реакции глюкозы с N-концевой аминогруппой β-цепи нормального зрелого гемоглобина (HbA). Этот первый этап обратимый и дает неустойчивый HbA1c. Он медленно трансформируется во второй этап, в результате которого получается устойчивый HbA1c. В эритроцитах относительное количество HbA, преобразуемого в устойчивый HbA1c, возрастает с увеличением средней концентрации глюкозы в крови. Преобразование в устойчивый HbA1c ограничивается сроком жизни эритроцитов — приблизительно 100–120 суток. В результате HbA1c отражает средний уровень глюкозы в крови за предшествующие 2–3

месяца. Следовательно, HbA1c подходит для мониторинга долгосрочного контроля глюкозы в крови людей, страдающих сахарным диабетом. Чем свежее уровни глюкозы, тем больше их влияние на уровень HbA1c. В ряде исследований была проанализирована приблизительная взаимосвязь между HbA1c и значением среднего содержания глюкозы в крови за предшествующие 2–3 месяца.

Принцип анализа

Метод ферментативного анализа

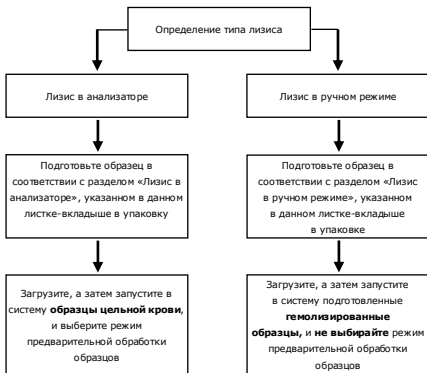


В первой реакции концентрация гемоглобина измеряется на основе поглощения света на фиксированной длине волны, и одновременно, в результате реакции протеиназы, образуются фруктозил-дипептиды из N-концевых аминогрупп бета-цепи HbA1c. Во второй реакции, получаемый при реакции фруктозил-пептид-оксидазы (FPOX) с фруктозил-дипептидами пероксид водорода в присутствии пероксидазы обеспечивает образование окрашенного продукта из натриевой соли 10-(карбоксиметиламинокарбонил)-3,7-бис(диметиламино)фенотиазина (DA67). Для определения HbA1c измеряется изменение поглощающей способности. Совокупные результаты анализа на гемоглобин и HbA1c используются системой для расчета и получения выражения HbA1c%.

Реагенты и компоненты

	N,N-Диметилформамид	<10,0 g/L
	Хлорид кальция	<2,0 g/L
R(Hb)/R1(HbA1c)/R1:	Протеиназа	>500 KU/L
	DA67	0,1 mmol/L
	ProClin 300 (реактив)	0,05%
	Азид натрия	<0,01%
R2(HbA1c)/R2:	Пероксидаза	>1500 U/L
	Фруктозил-пептид-оксидаза	>1500 U/L
R0(Раствор для	NaNO ₂	1,0 g/L

3. Смотрите приведенную ниже блок-схему:



■ Лизис в анализаторе

- 1.Смотрите “BS-series System Operations Manual” (Руководство по эксплуатации системы серии BS) -> “General Operating Procedure” (Общие операционные процедуры) -> “Whole Blood Test” (Анализ цельной крови).
- 2.Соотношение образца отцентрифугированных клеток крови и раствора для предварительной обработки составляет 10ul:200ul.
- 3.Предупреждение: Для антикоагуляционных пробирок высота всего образца в пробирке должна составлять не более 55 мм, а высота отцентрифугированных клеток крови — не менее 10 мм. Если эти параметры не соблюдаются, скорректируйте высоту всего образца и отцентрифугированных клеток крови или перейдите на лизис в ручном режиме.
- 4.Предупреждение: Запрещено использование флаконов для микрообразцов и микроцентрифужных пробирок Eppendorf.

■ Лизис в ручном режиме

- 1.Отберите 25 µL клеток крови из отцентрифугированного осадка во флакон для образцов или микроцентрифужную пробирку Eppendorf. Клетки крови легко адсорбируются на зонде для образцов и пипетке, что может привести к превышению целевого объема.
- 2.Добавьте 500 µL раствора для предварительной обработки в аналитическую пробирку.
- 3.Закройте аналитическую пробирку и выполните лизис крови путем переверачивания 10 раз или встряхивания в течение 10 с на вихревой мешалке.
- 4.Через 4 минут гемолизат можно использовать в качестве рабочих образцов.
- 5.При необходимости объемы клеток крови и раствора для предварительной обработки можно увеличивать в равной пропорции.
- 6.Образцы после предварительной обработки следует проанализировать как можно скорее.

■ Стабильность образцов

Стабильность цельной крови:	8 часов при 15–25°C
	7 суток при 2-8°C ^B
	30 дней при (-25)-(-15) °C
Стабильность гемолизата:	8 часов при 15–25°C
	24 часа при 2-8 °C

Не допускается замораживание образцов цельной крови. Требования к стабильности образцов были установлены изготовителем и/или основаны на эталонах, каждая лаборатория должна устанавливать свои собственные критерии стабильности образцов.

Подготовка реагентов

R(Hb)/R1(HbA1c)/R1, R2(HbA1c)/R2 и раствор для предварительной обработки готовы для использования.

Выполняйте плановое техническое обслуживание и стандартные операции, включая калибровку и анализ системы, чтобы гарантировать работоспособность аналитической системы.

Необходимые материалы, которые не представлены в наборе

1. Обычные лабораторные материалы:
дистиллированная/деионизированная вода.
2. Калибратор и Контроль: Ознакомьтесь с разделом инструкции для реагентов по выполнению калибровки и Контроля качества.
3. Химические анализаторы Mindray серии BS и лабораторное оборудование общего назначения.

Методика количественного анализа**■ Одиночный анализ**

Hb анализируется с использованием реагента R(Hb), и HbA1c анализируется с использованием реагента R1 (HbA1c)/R2(HbA1c).

Двойной анализ

Одновременно анализируются Hb и HbA1c с использованием реагента R1/R2.

1. Hb

Параметры	Химические анализаторы BS-800
Тип анализа	Метод конечной точки
Длина волны (первичная/вторичная)	505/800 nm

Направление реакции Увеличение

$R(\text{Hb})/R1(\text{HbA1c})$ 180 μL

Инкубируйте при 37 °C в течение 1 мин, определите поглощение A1, затем добавьте:

Образец или Калибратор 12 μL

Тщательно перемешайте, инкубируйте при 37 °C в течение 5 мин, определите поглощение A2,

Затем рассчитайте $\Delta A_{\text{Hb-калибратор}} = (A2-A1)$ калибратора,

$\Delta A_{\text{Hb-образец}} = (A2-A1)$ образца

2.HbA1c

Параметры	Химические анализаторы BS-800
Тип анализа	Метод конечной точки
Длина волны (первичная/вторичная)	660/800 nm
Направление реакции	Увеличение
$R1(\text{HbA1c})/R1$	180 μL
Образец или Калибратор	12 μL
Смешайте, инкубируйте при 37 °C в течение 5 мин, определите поглощение A1, затем добавьте:	
$R2(\text{HbA1c})/R2$	60 μL
Тщательно перемешайте, инкубируйте при 37 °C в течение 5 мин, определите поглощение A2,	
Затем рассчитайте $\Delta A_{\text{HbA1c-калибратор}} = (A2-A1)$ калибратора,	
$\Delta A_{\text{HbA1c-образец}} = (A2-A1)$ образца	

3.HbA1c%

Значение HbA1c% является наиболее распространенным в отчетах. Укажите результаты определения гемоглобина A1c в mmol/mol (IFCC) или процентах (NGSP):

Протокол 1 согласно IFCC: $\text{HbA1c (mmol/mol)} = \text{HbA1c}/\text{Hb} \times 1000$

Протокол 2 согласно NGSP/DCCT: $\text{HbA1c}(\%) = 91,5 \times \text{HbA1c} / \text{Hb} + 2,15$

Параметры могут отличаться на разных химических анализаторах, при необходимости их можно пропорционально корректировать. Для химических анализаторов Mindray серии BS параметры для реагентов предоставляются по запросу. Обратитесь к соответствующему руководству по эксплуатации для получения инструкций по анализу с использованием конкретного анализатора.

Калибровка

1.Рекомендуется использовать Калибратор Mindray (Калибратор HbA1c: 105-003680-00 или другие подходящие калибраторы) для калибровки по двум точкам. Относительно прослеживаемости измерений для Калибратора HbA1c можно обратиться к инструкциям по использованию калибратора компании Mindray.

2.Частота калибровки

Калибровка химических анализаторов BS-800 стабильна в течение приблизительно 28 суток. Для разных приборов стабильность калибровки может отличаться, каждой лаборатории следует установить частоту калибровки в параметрах прибора в соответствии со своим режимом использования.

Может понадобиться повторная калибровка при возникновении следующих обстоятельств:

- При изменении партии реагента.
- Согласно требованию соблюдаемых процедур контроля качества или при выходе значений для контрольного материала за допустимые пределы.
- При выполнении конкретной процедуры по техническому обслуживанию или устранению неисправности химических анализаторов.

3.Значения для калибратора зависят от партии и соответствующих моделей, указанных в таблице значений.

Контроль качества

1.Рекомендуется использовать Контроль Mindray (Контроль HbA1c: 105-002140-00, 105-002138-00 или другие подходящие контрольные материалы) для проверки эффективности процедуры измерения; дополнительно можно использовать другие подходящие контрольные материалы.

2.Рекомендуется использовать два уровня контрольных материалов для анализа каждой партии образцов. Кроме того, следует анализировать контрольный материал с каждой новой калибровкой, с каждым новым картриджем с реагентами и после определенных процедур технического обслуживания или устранения неисправностей, как подробно описано в соответствующем руководстве по эксплуатации системы.

3.В каждой лаборатории следует установить собственную схему внутреннего контроля качества и порядок выполнения корректирующих действий в тех случаях, когда результаты для контрольного материала выходят за рамки допустимых диапазонов.

Расчет

$C \text{ образца} = (\Delta A \text{ образца} / \Delta A \text{ калибратора}) \times C \text{ калибратора}$
Химический анализатор серии BS определяет изменение поглощения (ΔA) и автоматически рассчитывает концентрацию Hb/HbA1c для каждого образца после калибровки.

Система рассчитывает результаты HbA1c и Hb в $\mu\text{mol/L}$ (единицы СИ). Чтобы перевести результаты в g/dL (общепринятые единицы), используйте следующее уравнение:

Коэффициент пересчета: $\mu\text{mol/L} \times 0,1354 = \text{g/dL}$.

Предполагаемые значения⁹

Тип образца		Единицы СИ
Цельная кровь	Согласно IFCC	20,20-42,06 mmol/mol
	Согласно NGSP/DCCT	4,0%-6,0%

Предполагаемое значение получено при использовании эталона, и компания Mindray проверила его на 60 образцах, полученных у людей из южного Китая.

Каждая лаборатория должна устанавливать свои собственные референсные интервалы в зависимости от ее конкретного расположения и популяционных характеристик, поскольку предполагаемые значения могут отличаться в зависимости от географии, расы, пола и возраста.

Рабочие характеристики

■ Аналитическая чувствительность

Набор для определения Гемоглобина A1c (HbA1c) обладает аналитической чувствительностью $60 \mu\text{mol/L}$ для Hb, $2 \mu\text{mol/L}$ для HbA1c на приборе BS-400. Аналитическая чувствительность определяется как наименьшая концентрация аналита, по которой можно отличить образец, не содержащий этот аналит. Она рассчитывается как значение, на 3 стандартных отклонения превышающее среднее значение, полученное из 20 повторных анализов образца, не содержащего аналита.

■ Диапазон измерений

Системы Mindray серии BS обеспечивают следующий диапазон линейности:

Тип образца	Единицы СИ
Цельная кровь	3%-16% (NGSP/DCCT)

Для получения серии разведений в различных соотношениях смешивается образец с высокой концентрацией HbA1c (приблизительно 16%) и образец с низкой концентрацией (< 3%). Концентрацию HbA1c каждого разведения определяют с использованием системы Mindray,

диапазон линейности подтверждается по коэффициенту корреляции $r \geq 0,9900$. Регистрируемый диапазон составляет 3%–16% (NGSP/DCCT), поскольку это соотношение не может быть изменено посредством разведения.

■ Прецизионность

Прецизионность определяли с помощью следующего одобренного руководства CLSI EP05-A3¹⁰, каждую пробу количественно определяли по 2 раза за один анализ, проводили по 2 анализа в сутки в течение в общей сложности 20 суток. Данные по прецизионности (рассчитанные согласно NGSP/DCCT) анализа контрольных материалов на BS-400 обобщены в следующих таблицах*.

Тип образцов (N=80)	Mean (Среднее) (%)	Within-Run (Между анализами)		Within-Lab (Внутрилабораторная)	
		SD (Стандартное отклонение) (%)	CV (Коэффициент вариации) %	SD (Стандартное отклонение) (%)	CV (Коэффициент вариации) %
		Контроль N	4,43	0,14	3,19
Контроль P	9,32	0,13	1,43	0,16	1,75

*Репрезентативные данные, результаты, полученные на разных приборах и в разных лабораториях могут отличаться.

■ Аналитическая специфичность

Пробы с различной концентрацией мешающего вещества готовили путем добавления мешающего компонента к пулам образцов человека, и отсутствием значимого мешающего воздействия считались значения степени обнаружения в пределах $\pm 10,0\%$ от соответствующего контрольного значения.

Не наблюдали значимого мешающего воздействия указанных далее веществ при исследованиях вместе с ними с использованием данной методологии. Данные (рассчитанные согласно NGSP/DCCT) исследований мешающего воздействия на приборе BS-400 обобщены ниже*.

Настоящие разделы относятся к количественному определению HbA1c в образцах цельной крови без центрифугирования. Далее приведена отличающаяся часть выполнения анализа.

Отбор и подготовка образцов

■ Типы образцов

В качестве образцов пригодна цельная кровь с K_2 -EDTA, K_3 -EDTA, NaF-EDTA, гепарином лития и гепарином натрия.

■ Подготовка перед анализом

1. Применяйте подходящие пробирки или контейнеры для сбора образцов и следуйте инструкциям производителя. Избегайте негативного воздействия материалов пробирок или других контейнеров для сбора образцов.
2. Образцы центрифугировать не нужно.
3. Смотрите приведенную ниже блок-схему:



■ Лизис в анализаторе

- 1.Смотрите “BS-series System Operations Manual” (Руководство по эксплуатации системы серии BS) -> “General Operating Procedure” (Общие операционные процедуры) -> “Whole Blood Test” (Анализ цельной крови).
- 2.Перед загрузкой в систему Mindray серии BS тщательно перемешайте все образцы путем вихревого перемешивания на низкой скорости или осторожного переворачивания 10 раз.
- 3.Соотношение образца цельной крови и раствора для предварительной обработки составляет 10ul:200ul.
- 4.Предупреждение: Для антикоагуляционных пробирок высота всего образца в пробирке должна находиться в диапазоне 10 мм–55 мм. Если высота выходит за пределы этого диапазона, скорректируйте высоту образца и перейдите на лизис в ручном режиме.
- 5.Предупреждение: Запрещено использование флаконов для микрообразцов и микроцентрифужных пробирок Eppendorf.

■ Лизис в ручном режиме

- 1.Перед загрузкой тщательно перемешайте все образцы путем вихревого перемешивания на низкой скорости или осторожного переворачивания 10 раз.
- 2.Отберите 10 μL цельной крови во флакон для образцов или микроцентрифужную пробирку Eppendorf. Клетки цельной крови легко адсорбируются на зонде для образцов и пипетке, что может привести к превышению целевого объема.
- 3.Добавьте 200 μL раствора для предварительной обработки в аналитическую пробирку.
- 4.Закройте аналитическую пробирку и выполните лизис крови путем переворачивания 10 раз или встряхивания в течение 10 с на вихревой мешалке.
- 5.Через 4 минут гемолизат можно использовать в качестве рабочих образцов.
- 6.При необходимости объемы клеток цельной крови и раствора для предварительной обработки можно увеличивать в равной пропорции.
- 7.Образцы после предварительной обработки следует проанализировать как можно скорее.

■ Стабильность образцов

Стабильность цельной крови:	8 часов при 15–25°C
	7 суток при 2-8°C ^B
	30 дней при (-25)-(-15) °C
Стабильность гемолизата:	8 часов при 15–25°C
	24 часа при 2-8 °C

Требования к стабильности образцов были установлены изготовителем и/или основаны на эталонах, каждая лаборатория должна устанавливать свои собственные критерии стабильности образцов.

Необходимые материалы, которые не представлены в наборе

1. Химические анализаторы Mindray BS-600M или другие, имеющие функцию количественного определения HbA1c с использованием образцов цельной крови без центрифугирования и лабораторного оборудования общего назначения.

Методика количественного анализа

Двойной анализ: Анализ концентрации Hb и HbA1c выполняется с использованием реагента R1/R2.

1. Hb

Параметры	Химические анализаторы BS-600M
Тип анализа	Метод конечной точки
Длина волны (первичная/вторичная)	505/800 nm
Направление реакции	Увеличение
R1	90 µL
инкубируйте при 37 °C в течение 1 мин, определите поглощение A ₁ , затем добавьте:	
Образец или Калибратор	8 µL
Тщательно перемешайте, инкубируйте при 37°C в течение 5 мин, определите поглощение A ₂ , Затем рассчитайте $\Delta A_{\text{Hb-калибратор}} = (A_2 - A_1)$ калибратора, $\Delta A_{\text{Hb-образец}} = (A_2 - A_1)$ образца	

2. HbA1c

Параметры	Химические анализаторы BS-600M
Тип анализа	Метод конечной точки
Длина волны (первичная/вторичная)	660/800 nm
Направление реакции	Увеличение
R1	90 µL
Образец или Калибратор	8 µL
Смешайте, инкубируйте при 37 °C в течение 5 мин, определите поглощение A1, затем добавьте:	
R2	30 µL
Тщательно перемешайте, инкубируйте при 37°C в течение 5 мин, определите поглощение A2, Затем рассчитайте $\Delta A_{\text{HbA1c-калибратор}} = (A2 - A1)$ калибратора, $\Delta A_{\text{HbA1c-образец}} = (A2 - A1)$ образца	

3. HbA1c%

Значение HbA1c% является наиболее распространенным в отчетах. Укажите результаты определения гемоглобина A1c в mmol/mol (IFCC) или процентах (NGSP):

Протокол 1 согласно IFCC: $\text{HbA1c (mmol/mol)} = \text{HbA1c/Hb} \times 1000$

Протокол 2 согласно NGSP/DCCT: $\text{HbA1c(\%)} = 91,5 \times \text{HbA1c / Hb} + 2,15$

Параметры могут отличаться на разных химических анализаторах, при необходимости их можно пропорционально корректировать. Для химических анализаторов Mindray серии BS параметры для реагентов предоставляются по запросу. Обратитесь к соответствующему руководству по эксплуатации этих анализаторов.

«Калибровка» и «Контроль качества» относятся к разделу «Анализ HbA1c в образцах цельной крови с использованием центрифугирования»

Расчет

$\text{С образца} = (\Delta A \text{ образца} / \Delta A \text{ калибратора}) \times \text{С калибратора}$

Химический анализатор серии BS определяет изменение поглощения (ΔA) и автоматически рассчитывает концентрацию Hb/HbA1c для каждого образца после калибровки.

Система рассчитывает результаты HbA1c и Hb в $\mu\text{mol/L}$ (единицы СИ). Чтобы перевести результаты в g/dL (общепринятые единицы), используйте следующее уравнение:

Коэффициент пересчета: $\mu\text{mol/L} \times 0,1354 = \text{g/dL}$.

Разведение

Если значение для образца превышает $300 \mu\text{mol/L}$ (Hb) или $39 \mu\text{mol/L}$ (HbA1c), образец следует развести раствором для предварительной обработки (например, 1 к 1) и повторить анализ. Результат для Hb и HbA1c нужно умножить на 2. Для результата, выраженного в mmol/mol HbA1c (IFCC) и %HbA1c (DCCT/NGSP) коэффициент пересчета не требуется.

Предполагаемые значения⁹

Тип образца		Единицы СИ
Цельная кровь	Согласно IFCC	20,20-42,06 mmol/mol
	Согласно NGSP/DCCT	4,0%-6,0%

Предполагаемое значение получено при использовании эталона, и компания Mindray проверила его на 60 образцах, полученных у людей из южного Китая.

Каждая лаборатория должна устанавливать свои собственные референсные интервалы в зависимости от ее конкретного расположения и популяционных характеристик, поскольку предполагаемые значения могут отличаться в зависимости от географии, расы, пола и возраста.

Рабочие характеристики

■ Аналитическая чувствительность

Предел значения холостого образца (LoB) и предел обнаружения (LoD) определяли на приборе BS-600M в соответствии с одобренным руководством CLSI EP17-A2.

Hb:	HbA1c:	HbA1c% (NGSP/DCCT):
LoB=4,55 $\mu\text{mol/L}$	LoB=1,12 $\mu\text{mol/L}$	LoB=2,97%
LoD=4,94 $\mu\text{mol/L}$	LoB=1,17 $\mu\text{mol/L}$	LoD=3,01%

Предел значения холостого образца — это значение по 95-му процентилю, полученное по результатам $n \geq 60$ измерений одного или нескольких образцов, не содержащих аналитов, в нескольких независимых сериях анализа. Предел значения холостого образца соответствует концентрации, ниже которой с вероятностью 95% выявляются образцы, не содержащие аналита.

Предел обнаружения определяется на основе предела значения холостого образца и стандартного отклонения для образцов с низкой концентрацией. Предел обнаружения соответствует самой низкой концентрации аналита, которая может быть обнаружена (значение должно быть выше предела значения холостого образца с вероятностью выявления 95%).

■ Диапазон измерений

Системы Mindray серии BS обеспечивают следующий диапазон линейности:

Тип образца	Единицы СИ	
	HbA1c%	3%–16% (NGSP/DCCT)
Цельная кровь	HbA1c	2-39 $\mu\text{mol/L}$
	Hb	60-300 $\mu\text{mol/L}$

HbA1c%: Для получения серии разведений в различных соотношениях смешивается образец с высокой концентрацией HbA1c% (приблизительно 16%) и образец с низкой концентрацией (< 3%). Концентрацию HbA1c% для каждого разведения определяют с использованием системы Mindray, диапазон линейности подтверждается по коэффициенту корреляции $r \geq 0,9900$.

HbA1c (концентрация Hb $\geq 100 \mu\text{mol/L}$): Для получения серии разведений в различных соотношениях смешивается образец с высокой концентрацией HbA1c (приблизительно 39 $\mu\text{mol/L}$) и образец с низкой концентрацией (< 2 $\mu\text{mol/L}$). Концентрацию HbA1c каждого разведения определяют с использованием системы Mindray, диапазон линейности подтверждается по коэффициенту корреляции $r \geq 0,9900$.

Hb: Для получения серии разведений в различных соотношениях смешивается образец с высокой концентрацией Hb (приблизительно 300 $\mu\text{mol/L}$) и образец с низкой концентрацией (< 60 $\mu\text{mol/L}$). Концентрацию Hb для каждого разведения определяют с использованием системы Mindray, диапазон линейности подтверждается по коэффициенту корреляции $r \geq 0,9900$.

■ Прецизионность

Прецизионность определяли с помощью следующего одобренного руководства CLSI EP05-A3¹⁰, каждую пробу количественно определяли по 2 раза за один анализ, проводили по 2 анализа в сутки в течение в общей сложности 20 суток. Данные по прецизионности (рассчитанные согласно NGSP/DCCT) для контрольных материалов и образцов человека на приборе BS-600M обобщены ниже*.

Тип образцов (N=80)	Mean (Среднее) (%)	Within-Run (Между анализами)		Within-Lab (Внутрилабораторная)	
		SD (Стандартное отклонение) (%)	CV (Коэффициент вариации) %	SD (Стандартное отклонение) (%)	CV (Коэффициент вариации) %
		Контроль N	5,16	0,02	0,35
Контроль P	10,28	0,02	0,18	0,03	0,29
Цельная кровь 1	5,47	0,02	0,32	0,03	0,54
Цельная кровь 2	6,63	0,02	0,33	0,03	0,45
Цельная кровь 3	9,32	0,02	0,22	0,04	0,46
Цельная кровь 4	11,38	0,03	0,27	0,05	0,41

*Репрезентативные данные, результаты, полученные на разных приборах и в разных лабораториях могут отличаться.

■ Аналитическая специфичность

1. Эндогенные вещества и лекарственные средства

Образцы с различной концентрацией мешающего вещества готовили путем добавления мешающего компонента к пулам образцов человека, и отсутствием значимого мешающего воздействия считались значения степени обнаружения в пределах $\pm 5,0\%$ от соответствующего контрольного значения.

Не наблюдали значимого мешающего воздействия указанных далее веществ при исследованиях вместе с ними с использованием данной методологии. Данные (рассчитанные согласно NGSP/DCCT) исследований мешающего воздействия на приборе BS-600M обобщены ниже*.

Мешающее вещество	Мешающая концентрация	Концентрация анализа	Относительное отклонение
Аскорбиновая кислота	3 mg/dL	6,64%	+0,41%
Конъюгированный билирубин	15 mg/dL	6,63%	-2,06%
Неконъюгированный билирубин	10 mg/dL	6,66%	-2,19%
Триглицерид	2000 mg/dL	6,67%	-0,10%
Метформин	5,1 mg/dL	6,61%	-0,40%
Ибупрофен	50mg/dL	6,59%	+0,15%
Акарбоза	50mg/dL	6,58%	-0,08%
Панадол	200 µg/mL	6,59%	-3,07%
Аспирин	50 mg/dL	6,56%	0,00%

**Репрезентативные данные, результаты, полученные на разных приборах и в разных лабораториях могут отличаться.*

2. Производные Гемоглобинов

Образцы с различными типами производных гемоглобинов получали путем добавления потенциально мешающего компонента к пулам образцов человека, и отсутствием значимого мешающего воздействия считались значения степени обнаружения в пределах $\pm 5,0\%$ от соответствующего контрольного значения.

Не наблюдали значимого мешающего воздействия при добавлении следующих веществ с использованием данной методологии. Данные (рассчитанные согласно NGSP/DCCT) исследований мешающего воздействия на приборе BS-600M обобщены ниже*.

Тип производных Гемоглобинов	Концентрация анализа	Относительное отклонение
Ацетилированный Гемоглобин, получен добавлением ≥ 50 mg/dL аспирина	6,50%	+0,71%
Карбамилированный Гемоглобин, получен добавлением ≥ 10 mmol/L цианата	6,61%	-1,43%
Нестабильный Гемоглобин, получен добавлением ≥ 1000 mg/dL глюкозы	6,61%	-1,13%

**Репрезентативные данные, результаты, полученные на разных приборах и в разных лабораториях могут отличаться.*

3. Варианты Гемоглобинов

Специфичность оценивали сравнением значений Гемоглобина A1c с эталонными значениями для образцов, содержащих аномальные гемоглобины, и отсутствием значимого мешающего воздействия считались значения степени обнаружения в пределах $\pm 5,0\%$ от соответствующего контрольного значения.

Варианты гетерозиготных гемоглобинов (Hb-C, Hb-D, Hb-E, Hb-S, HbA2) не влияют на количественное определение Гемоглобина A1c.

Статистические данные (рассчитанные согласно NGSP/DCCT) исследования вариантов гемоглобинов на приборе BS-600M обобщены в следующей таблице.

Вариант гемоглобина	Относительный % отклонения от эталонной концентрации	
	~ 6,5 %HbA1c	~ 9,0 %HbA1c
Hb-C	-3,42%	-3,29%
Hb-D	-1,24%	-0,74%
Hb-E	+1,53%	+1,36%
Hb-S	-1,05%	-1,39%
HbA2	+3,22%	+3,85%
Hb-F	Отклонение превышает -5%, когда количество HbF в образце превышает 5%*.	

*Отрицательный % отклонения для HbF пропорционален по величине % HbF, содержащегося в образце. Например, когда количество HbF в образце составляло 17%, % отклонения составлял -11,6% на системе Mindray BS-600M.

ПРИМЕЧАНИЕ: На % отклонения может влиять наличие множества вариантов в образце.


■ Сравнение методов

Исследования корреляции выполняли с использованием одобренного руководства CLSI EP09-A3¹¹. Сравнивали систему Mindray (Mindray BS-2800M/реагент HbA1c Mindray) (y) с системой сравнения (Mindray H50/реагент HbA1c Mindray) (x), используя одинаковые образцы. Статистические данные (рассчитанные согласно NGSP/DCCT), полученные линейной регрессией, показаны в таблице ниже*:

Уравнение регрессии	Коэффициент корреляции (r)	Образец (N)	Диапазон концентрации
$y = 1,0178x - 0,08688$	0,9962	118	4,72%-15,65%

*Репрезентативные данные, результаты, полученные на разных приборах и в разных лабораториях могут отличаться.

10. При случайном попадании реагента в глаза или ротовую полость, а также на кожу немедленно обильно промойте пораженные участки большим количеством воды. При необходимости обратитесь к врачу для получения медицинской помощи.
11. Паспорт безопасности материала предоставляется профессиональному пользователю по запросу.
12. Утилизация всех отходов должна производиться в соответствии с местными правилами.
13. Весь человеческий материал следует считать потенциально инфекционным.
14. Все выявленные риски были снижены настолько, насколько это возможно без негативного влияния на соотношение пользы и риска, и общий остаточный риск является приемлемым.
15. О любом серьезном инциденте, произошедшем в связи с этим устройством, необходимо сообщить производителю и компетентному органу страны, к которой относится пользователь и/или пациент.
16. Этот набор содержит компоненты, классифицируемые в соответствии с Регламентом (ЕС) № 1272/2008 следующим образом:

	
Опасно!	
H317	Может вызывать аллергические реакции кожи.
H360D	Может причинить вред ребенку в утробе матери.
H412	Оказывает вредное воздействие на водные организмы с длительным эффектом.
Профилактика:	
P201	Перед использованием ознакомьтесь со специальными инструкциями.
P280	Надевайте защитные перчатки и защитную одежду.
P261	Избегайте вдыхания тумана/паров/аэрозолей.
P273	Не допускайте попадания в окружающую среду.
P272	Не допускайте попадания зараженной рабочей одежды за пределы рабочего места.
Меры реагирования:	
P308+P313	При воздействии или потенциальном воздействии: Обратитесь за консультацией/помощью к врачу.

P302+P352	ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Обильно промойте водой.
P333+P313	При возникновении раздражения кожи или сыпи: Обратитесь за консультацией/помощью к врачу.
P362+P364	Снимите зараженную одежду и постирайте ее перед повторным использованием.
Утилизация:	
P501	Утилизируйте содержимое/контейнер в разрешенных местах сбора опасных или специальных отходов в соответствии с любыми местными правилами.

Литература

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Elsevier Saunders 2012;1441-1447.
2. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA et al. Tests of glycemia in diabetes. Diabetes Care, 1995;18:896-909.
3. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. Diabetes Care, 1994;17:938-939.
4. 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.
5. Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. Diabetes, 1993;42:1549-1554.
6. 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.
7. Nathan DM, Kuenen J, Borg R et al. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. Diabetes Care, 2008; 31:1473-1478.
8. Wu, Alan HB. Tietz clinical guide to laboratory tests. 4th ed. Elsevier Health Sciences, 2006; 480.

- Hanas R, John G, International HbA1c Consensus Committee. 2010 Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. ClinChem Lab Med, 2010;48:775-776.
- CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
- CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Sample; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. Washington, DC: AACC Press; 2000:3-433,3-434.

Условные обозначения



In Vitro Diagnostic
medical device



Unique device
identifier



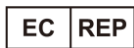
European
Conformity



Consult Instructions
For use



Use-by
date



Authorized representative in
the European Community



Batch Code



Temperature
limit



Manufacturer



Catalogue
number



Keep away from sunlight

Indicates a medical device that needs protection from light sources

© 2022-2023 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Все права защищены.

Производитель: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Адрес: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-Tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057, P. R. China

Адрес электронной почты: service@mindray.com

Веб-сайт: www.mindray.com

Тел.: +86-755-81888998; **Факс:** +86-755-26582680

Представитель в ЕС: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Европа)

Адрес: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany (Германия)

Тел.: 0049-40-2513175; **Факс:** 0049-40-255726

HbA1c

Kit de Hemoglobina A1c (Método de ensaio enzimático)

mindray



Informações da Encomenda

Nº de Ref.	Tamanho do pacote
105-002165-00	R(Hb): 1×30 ml + R1(HbA1c): 1×30 ml + R2(HbA1c): 1×12 ml + R0: 1×150 ml
105-002166-00	R(Hb): 1×40 ml + R1(HbA1c): 1×40 ml + R2(HbA1c): 1×15 ml + R0: 1×200 ml
105-002167-00	R(Hb): 2×40 ml + R1(HbA1c): 2×40 ml + R2(HbA1c): 2×15 ml + R0: 2×150 ml
105-009338-00	R1: 1×40 ml + R2: 1×15 ml + R0: 3×40 ml
105-005737-00	R1: 1×40 ml + R2: 1×15 ml + R0: 1×200 ml
105-005738-00	R1: 2×40 ml + R2: 2×15 ml + R0: 3×58 ml

Utilização Prevista

Teste in vitro para a determinação quantitativa da concentração da Hemoglobina A1c (HbA1c) no sangue total humano em analisadores químicos da série BS da Mindray. Destina-se a ser utilizado para diagnóstico e monitorização do efeito terapêutico da diabetes.

Resumo¹⁻⁷

A Hemoglobina (Hb) consiste em quatro cadeias proteicas com quatro porções de heme e é a proteína de pigmento vermelho localizada nos eritrócitos. A sua principal função é o transporte de oxigénio e dióxido de carbono no sangue. Cada molécula de Hb é capaz de ligar quatro moléculas de oxigénio. A Hb consiste numa variedade de subfrações e derivados. Entre este grupo heterogéneo de hemoglobinas HbA1c encontra-se uma das hemoglobinas glicadas, uma subfração formada pela ligação de vários açúcares à molécula Hb. A HbA1c forma-se em duas etapas pela reação não enzimática da glucose com o grupo amina N-terminal da cadeia β da Hb adulta (HbA) normal. O primeiro passo é reversível e produz HbA1c lábil. Esta reajusta-se lentamente no segundo passo de reação para produzir HbA1c estável. Nos eritrócitos, a quantidade relativa de HbA convertida em HbA1c estável aumenta com a concentração média de glucose no sangue. A conversão para HbA1c estável é limitada pela duração de vida do eritrócito que é de cerca de 100 a 120 dias. Assim, a HbA1c reflete o nível médio de glucose no sangue durante os 2 a 3 meses anteriores. A HbA1c é, pois, adequada para monitorizar o controlo a longo prazo da glicemia em indivíduos com diabetes mellitus. Os níveis de glucose mais recentes têm uma maior influência no nível de HbA1c. A relação aproximada entre a

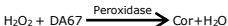
HbA1c

mindray

HbA1c e o valor médio da glicemia durante os 2 a 3 meses anteriores foi investigada em diferentes estudos.

Princípio do Ensaio

Método de Ensaio Enzimático



Na primeira reação, a concentração de hemoglobina é medida em absorvância de comprimento de onda fixo e, simultaneamente, os dipeptídeos fructosil são gerados a partir dos grupos amina N-terminal da cadeia beta da HbA1c pela reação da proteinase. Na segunda reação, a reação da Fructosil peptídeo oxidase (FPOX) com dipeptídeos de fructosil, o hidroperóxido gerado permite que 10-(carboximetilaminocarbonil)-3,7-bis (dimetil- amino) fenotiazina sal de sódio (DA67) desenvolva uma cor na presença de peroxidase. A mudança na absorvância é medida para a determinação da HbA1c. O sistema utiliza os resultados do ensaio combinado de hemoglobina e HbA1c para calcular e expressar a HbA1c %.

Componentes dos reagentes

	N,N-Dimetilformamida	<10,0 g/l
	Cloreto de cálcio	<2,0 g/l
R(Hb)/R1(HbA1c)/R1:	Proteinase	> 500 KU/l
	DA67	0,1 mmol/l
	ProClin 300	0,05%
	Azida de sódio	<0,01%
R2(HbA1c)/R2:	Peroxidase	> 1500 U/l
	Fructosil peptídeo oxidase	> 1500 U/l
R0(Solução de pré-tratamento)	NaNO ₂	1,0 g/l
	ProClin 300	0,05%

Armazenamento e estabilidade

Até à data de validade indicada no rótulo, quando armazenados por abrir, a 2-8 °C e protegidos da luz.

Quando em utilização, os reagentes mantêm-se estáveis durante 28 dias se refrigerados no analisador.

Deve-se evitar a contaminação

Não congelar o reagente.

- 3.Aviso: Para os tubos de anticoagulação, a altura da amostra total no tubo não deve ser superior a 55 mm e a altura do corpúsculo sanguíneo centrifugado não deve ser inferior a 10 mm. Se não estiver satisfeito, ajustar à altura da amostra total e do corpúsculo sanguíneo centrifugado ou mudar para lise manual.
- 4.Aviso: Não são permitidos copos de microamostra e tubos de microcentrifuga Eppendorf.

■ Lise manual

- 1.Obter 25 µl de corpúsculo sanguíneo do depósito centrifugado para um copo de amostra ou um tubo de microcentrifuga Eppendorf. O corpúsculo sanguíneo é facilmente adsorvido à sonda de amostra e à pipeta, o que pode fazer com que o volume-alvo seja excedido.
- 2.Adicionar 500 µl de solução de pré-tratamento ao tubo de ensaio.
- 3.Fechar o tubo de ensaio e lisar o sangue invertendo 10 vezes ou agitando durante 10 s no misturador vórtex.
- 4.Após 4 minutos o hemolisado pode ser utilizado como amostra de trabalho.
- 5.O volume do corpúsculo sanguíneo e da solução de pré-tratamento pode ser amplificado na mesma proporção, se necessário.
- 6.Os espécimes devem ser testados o mais cedo possível após o tratamento pré-analítico.

■ Estabilidade da amostra

- Estabilidade do sangue total: 8 horas a 15-25 °C
7 dias a 2-8 °C⁸
30 dias a (-25)-(-15) °C
- Estabilidade do hemolisado: 8 horas a 15-25 °C
24 horas a 2-8 °C

Não congelar as amostras de sangue total. As alegações de estabilidade das amostras foram estabelecidas pelo fabricante e/ou baseadas em referências, pelo que cada laboratório deve estabelecer os seus próprios critérios de estabilidade da amostra.

Preparação de reagentes

Os reagentes R(Hb)/R1(HbA1c)/R1, R2(HbA1c)/R2 e a solução de pré-tratamento estão prontos para utilização.

Realizar a manutenção programada e operação padrão, incluindo calibração e análise, para assegurar o desempenho do sistema de medição.

Materiais necessários mas não fornecidos

- 1.Materiais gerais de laboratório: água destilada/desionizada.
- 2.Calibrador e Controlo: verificar a secção de instruções de reagentes da Calibração e Controlo de Qualidade.

3. Analisadores químicos da série BS da Mindray e equipamento geral de laboratório.

Procedimento de ensaio**■ Teste individual**

Testou-se a Hb com a utilização do reagente R(Hb), e a HbA1c foi testada utilizando os reagentes R1 (HbA1c)/R2(HbA1c).

■ Teste duplo

A Hb e a HbA1c foram testadas simultaneamente utilizando os reagentes R1/R2.

1. Hb

Parâmetros	Analisadores químicos BS-800
Tipo de ensaio	Endpoint
Comprimento de onda (Primário/Secundário)	505/800 nm
Direção da reação	Aumento
R (Hb)/R1(HbA1c)	180 µl
incubar a 37 °C durante 1 min, ler a absorvância A1, depois adicionar:	
Amostra ou Calibrador	12 µl
Misturar cuidadosamente, incubar a 37 °C durante 5 min, ler a absorvância A2, depois calcular $\Delta A_{\text{Hb-calibrador}} = \text{calibrador} (A2 - A1)$, $\Delta A_{\text{Hb-amostra}} = \text{amostra} (A2 - A1)$	

2. HbA1c

Parâmetros	Analisadores químicos BS-800
Tipo de ensaio	Endpoint
Comprimento de onda (Primário/Secundário)	660/800 nm
Direção da reação	Aumento
R1 (HbA1c)/R1	180 µl
Amostra ou Calibrador	12 µl
Misturar, incubar a 37 °C durante 5 min, ler a absorvância A1, depois adicionar:	
R2 (HbA1c)/R2	60 µl
Misturar cuidadosamente, incubar a 37 °C durante 5 min, ler a absorvância A2, Depois calcular $\Delta A_{\text{HbA1c-calibrador}} = \text{calibrador} (A2 - A1)$, $\Delta A_{\text{HbA1c-amostra}} = \text{amostra} (A2 - A1)$	

3.HbA1c%

HbA1c% é a forma mais comum nos relatórios. Resultados dos relatórios de hemoglobina A1c em mmol/mol (IFCC) ou percentagem (NGSP):

Protocolo 1 de acordo com IFCC: $HbA1c \text{ (mmol/mol)} = HbA1c/Hb \times 1000$

Protocolo 2 de acordo com NGSP/DCCT: $HbA1c(\%) = 91,5 \times HbA1c / Hb + 2,15$

Os parâmetros podem variar em diferentes analisadores químicos, podendo ajustar-se em proporção, se necessário. Para os analisadores químicos da série BS da Mindray, os parâmetros dos reagentes estão disponíveis mediante solicitação. Consultar o manual de instruções apropriado para as instruções de ensaio específicas do analisador.

Calibração

1.Recomenda-se a utilização do Calibrador Mindray (Calibrador HbA1c: 105-003680-00 ou outros calibradores adequados) para calibração de dois pontos. A rastreabilidade do Calibrador HbA1c pode referir-se às instruções de utilização do calibrador da empresa Mindray.

2.Frequência de calibração:

A calibração mantém-se estável durante aproximadamente 28 dias nos analisadores químicos BS-800. A estabilidade da calibração pode variar em diferentes instrumentos, pelo que cada laboratório deve definir uma frequência de calibração nos parâmetros do instrumento adequada ao seu padrão de utilização.

A recalibração pode ser necessária quando ocorre o seguinte:

- Quando o lote de reagente muda.
- Conforme necessário, seguindo os procedimentos de controlo de qualidade ou em condições fora de controlo.
- Quando executa manutenção específica ou procedimentos de resolução de problemas nos analisadores químicos.

3.Os valores do calibrador são específicos do lote estando os modelos correspondentes indicados na folha de valores.

Controlo de qualidade

1.Recomendamos a utilização do Controlo Mindray (Controlo HbA1c: 105-002140-00, 105-002138-00 ou outros controlos adequados) para verificar o desempenho do procedimento de medição; para além deste, também se pode utilizar outro material de controlo adequado.

2.Recomendam-se dois níveis de material de controlo para analisar cada lote de amostra. Além disso, o controlo deve ser executado a cada nova calibração, a cada novo cartucho de reagente e após procedimentos específicos de manutenção ou resolução de problemas, conforme

detalhado no manual do sistema apropriado.

3. Cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio esquema e procedimento interno de controlo de qualidade para ações corretivas se o controlo não recuperar dentro das tolerâncias aceitáveis.

Cálculo

Amostra C = (amostra ΔA /calibrador ΔA) \times calibrador C.

O analisador químico da série BS deteta a mudança de absorvância (ΔA) e calcula automaticamente a concentração de Hb/HbA1c de cada amostra após a calibração.

O sistema calcula os resultados de HbA1c e Hb em $\mu\text{mol/l}$ (unidades SI). Para converter os resultados para g/dl (unidades comuns), utilize a seguinte equação:

Fator de conversão: $\mu\text{mol/l} \times 0,1354 = \text{g/dl}$.

Valores esperados⁹

	Tipo de amostra	Unidades S.I.
Sangue total	De acordo com IFCC	20,20-42,06 mmol/mol
	De acordo com NGSP/DCCT	4,0%-6,0%

O valor esperado é fornecido a partir de referências, e a Mindray verificou-o através de 60 amostras de pessoas do sul da China.

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos de referência com base nas suas características locais e populacionais particulares, uma vez que os valores esperados podem variar com a geografia, raça, sexo e idade.

Caraterísticas de desempenho

■ Sensibilidade analítica

O Kit de Hemoglobina A1c tem uma sensibilidade analítica de 60 $\mu\text{mol/l}$ para Hb, 2 $\mu\text{mol/l}$ para HbA1c no BS-400. A sensibilidade analítica é definida como a menor concentração de analito que pode ser distinguida de uma amostra que não contém analito. É calculada como o valor que se encontra 3 desvios padrão acima da média de 20 réplicas de uma amostra sem analito.

■ Intervalo de medição

Os sistemas da série BS da Mindray fornecem o seguinte intervalo de linearidade:

Tipo de amostra	Unidades S.I.
Sangue total	3%-16% (NGSP/DCCT)

Uma amostra de HbA1c de alta concentração (aproximadamente 16%) é

misturada com uma amostra de baixa concentração (<3%) em diferentes rácios, gerando uma série de diluições. A concentração de HbA1c de cada diluição é determinada utilizando o sistema Mindray; o intervalo de linearidade é demonstrado com o coeficiente de correlação $r \geq 0,9900$. O intervalo relatável é de 3%-16% (NGSP/DCCT), uma vez que o rácio não pode ser resolvido através da diluição.

■ Precisão

A precisão foi determinada seguindo a Diretriz EP05-A3¹⁰ aprovada pelo CLSI; cada amostra foi analisada 2 vezes por execução, 2 execuções por dia, durante um total de 20 dias. Os dados de precisão (calculados de acordo com NGSP/DCCT) dos controlos no BS-400 estão resumidos nas tabelas seguintes*.

Tipo de espécime (N=80)	Média (%)	Dentro da execução		Dentro do laboratório	
		DP (%)	CV %	DP (%)	CV %
Controlo N	4,43	0,14	3,19	0,17	3,79
Controlo P	9,32	0,13	1,43	0,16	1,75

*Dados representativos; os resultados em diferentes instrumentos e laboratórios podem variar.

■ Especificidade analítica

As amostras com diferentes concentrações de substância interferente foram preparadas adicionando a substância interferente a grupos de amostras humanas e as recuperações estão dentro de $\pm 10,0$ % do valor de controlo correspondente considerado como não havendo interferência significativa. Não se observou qualquer interferência significativa quando as seguintes substâncias foram testadas quanto à interferência com esta metodologia. Os dados (calculados de acordo com NGSP/DCCT) dos estudos de interferência no BS-400 são resumidos abaixo.

Substância interferente	Concentração do interferente (mg/dl)	Concentração de analito (HbA1c%)	Desvio relativo (%)*
Ácido ascórbico	30	9,03	-2,21
Bilirrubina	50	8,93	+2,61
Intralípido	2000	8,87	-2,26
Glucose	1000	8,97	-4,83

*Dados representativos; os resultados em diferentes instrumentos e laboratórios podem variar.

■ Comparação de métodos

Estas secções aplicam-se ao ensaio de HbA1c, utilizando amostras de sangue total sem centrifugação. A parte diferente é a que se segue.

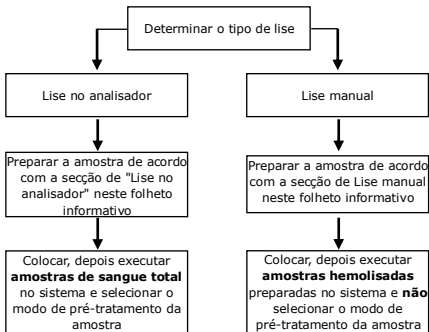
Colheita e preparação de espécimes

■ Tipos de espécimes

São adequadas amostras de sangue total com K_2 -EDTA, K_3 -EDTA, NaF-EDTA, heparina de lítio e heparina de sódio.

■ Preparação para análise

1. Utilizar os tubos ou recipientes de colheita adequados, e seguir as instruções do fabricante; evitar utilizar outros tubos ou recipientes de colheita.
2. Não centrifugar as amostras.
3. Consultar o fluxograma abaixo:



■ Lise no analisador

1. Consultar "Manual de Instruções do Sistema Série BS" -> "Procedimento Geral de Funcionamento" -> "Teste de Sangue Total".

2. Misturar cuidadosamente todos os espécimes através de vórtex de baixa velocidade ou invertendo suavemente 10 vezes antes de colocar no sistema da série BS da Mindray.
3. A proporção da amostra de sangue total e solução de pré-tratamento é de 10ul:200ul.
4. Aviso: Para os tubos de anticoagulação, a altura da amostra total no tubo deve estar dentro do intervalo de 10 mm-55 mm. Se estiver fora do intervalo, ajustar à altura da amostra ou mudar para lise manual.
5. Aviso: Não são permitidos copos de microamostra e tubos de microcentrifuga Eppendorf.

■ Lise manual

1. Misturar cuidadosamente todos os espécimes através de vórtex de baixa velocidade ou invertendo suavemente 10 vezes.
2. Colocar 10 µl de sangue total num copo de amostra ou num tubo de microcentrifuga Eppendorf. O sangue total é facilmente adsorvido à sonda de amostra e à pipeta, o que pode fazer com que o volume-alvo seja excedido.
3. Adicionar 200 µl de solução de pré-tratamento ao tubo de ensaio.
4. Fechar o tubo de ensaio e lisar o sangue invertendo 10 vezes ou agitando durante 10 s no misturador vórtex.
5. O hemolisado pode ser utilizado como amostra de trabalho após 4 minutos.
6. O volume de sangue total e da solução de pré-tratamento pode ser amplificado na mesma proporção, se necessário.
7. Os espécimes devem ser testados o mais cedo possível após tratamento pré-analítico.

■ Estabilidade da amostra

Estabilidade do sangue total: 8 horas a 15-25 °C

7 dias a 2-8 °C^B

30 dias a (-25)-(-15) °C

Estabilidade do hemolisado: 8 horas a 15-25 °C

24 horas a 2-8 °C

As alegações de estabilidade das amostras foram estabelecidas pelo fabricante e/ou baseadas em referências, pelo que cada laboratório deve estabelecer os seus próprios critérios de estabilidade da amostra.

Materiais necessários mas não fornecidos

1. Analisadores químicos BS-600M da Mindray ou outros que têm a função de análise da HbA1c utilizando amostras de sangue total sem centrifugação e equipamento geral de laboratório.

Procedimento de ensaio

Teste duplo: Testou-se a concentração de Hb e HbA1c utilizando os reagentes R1/R2.

1.Hb

Parâmetros	Analísadores químicos BS-600M
Tipo de ensaio	Endpoint
Comprimento de onda (Primário/Secundário)	505/800 nm
Direção da reação	Aumento
R1:	90 µl
incubar a 37 °C durante 1 min, ler a absorvância A1, depois adicionar:	
Amostra ou Calibrador	8 µl
Misturar cuidadosamente, incubar a 37 °C durante 5 min, ler a absorvância A2, depois calcular $\Delta A_{\text{Hb-calibrador}} = \text{calibrador} (A2-A1)$, $\Delta A_{\text{Hb-amostra}} = \text{amostra} (A2-A1)$	

2.HbA1c

Parâmetros	Analísadores químicos BS-600M
Tipo de ensaio	Endpoint
Comprimento de onda (Primário/Secundário)	660/800 nm
Direção da reação	Aumento
R1:	90 µL
Amostra ou Calibrador	8 µl
Misturar, incubar a 37 °C durante 5 min, ler a absorvância A1, depois adicionar:	
R2:	30 µl
Misturar cuidadosamente, incubar a 37 °C durante 5 min, ler a absorvância A2, Depois calcular $\Delta A_{\text{HbA1c-calibrador}} = \text{calibrador} (A2-A1)$, $\Delta A_{\text{HbA1c-amostra}} = \text{amostra} (A2 -A1)$	

HbA1c

3.HbA1c%

HbA1c% é a forma mais comum nos relatórios. Resultados dos relatórios de hemoglobina A1c em mmol/mol (IFCC) ou percentagem (NGSP):

Protocolo 1 de acordo com IFCC: $HbA1c \text{ (mmol/mol)} = HbA1c/Hb \times 1000$

Protocolo 2 de acordo com NGSP/DCCT: $HbA1c(\%) = 91,5 \times HbA1c / Hb + 2,15$

Os parâmetros podem variar em diferentes analisadores químicos, podendo ajustar-se em proporção, se necessário. Para os analisadores químicos da série BS da Mindray, os parâmetros dos reagentes estão disponíveis mediante solicitação. Consultar o manual de instruções apropriado para os analisadores.

“Calibração” e “Controle de qualidade” referem-se à seção “HbA1c utilizando amostras de sangue total com centrifugação”.

Cálculo

Amostra C = (amostra ΔA /calibrador ΔA) \times calibrador C.

O analisador químico da série BS deteta a mudança de absorvância (ΔA) e calcula automaticamente a concentração de Hb/HbA1c de cada amostra após a calibração.

O sistema calcula os resultados de HbA1c e Hb em $\mu\text{mol/l}$ (unidades SI). Para converter os resultados para g/dl (unidades comuns), utilize a seguinte equação:

Fator de conversão: $\mu\text{mol/l} \times 0,1354 = \text{g/dl}$.

Diluição

Se o valor da amostra exceder $300 \mu\text{mol/l}$ (Hb) ou $39 \mu\text{mol/l}$ (HbA1c), a amostra deverá ser diluída com solução de pré-tratamento (por exemplo 1+1) e a análise repetida; o resultado de Hb e HbA1c deve ser multiplicado por 2. Não é necessário fator de conversão para o resultado mmol/mol de HbA1c (IFCC) e % de HbA1c (DCCT/NGSP).

Valores esperados⁹

	Tipo de amostra	Unidades S.I.
Sangue total	De acordo com IFCC	20,20-42,06 mmol/mol
	De acordo com NGSP/DCCT	4,0%-6,0%

O valor esperado é fornecido a partir de referências, e a Mindray verificou-o através de 60 amostras de pessoas do sul da China.

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos de referência com base nas suas características locais e populacionais particulares, uma vez que os valores esperados podem variar com a geografia, raça, sexo e idade.

Caraterísticas de desempenho**■ Sensibilidade analítica**

Determinou-se o Limite do Branco (LoB) e o Limite de deteção (LoD) no BS-600M em conformidade com a Diretriz EP17-A2 aprovada pelo CLSI.

Hb:	HbA1c:	HbA1c%(NGSP/DCCT):
LoB=4,55 µmol/l	LoB=1,12 µmol/l	LoB=2,97%
LoD=4,94 µmol/l	LoD=1,17 µmol/l	LoD=3,01%

O Limite do Branco é o valor do percentil 95º de $n \geq 60$ medições de uma ou várias amostras sem analito em várias séries independentes. O Limite do Branco corresponde à concentração abaixo da qual são encontradas amostras sem analito com uma probabilidade de 95%.

O Limite de Deteção é determinado com base no Limite do Branco e no desvio padrão das amostras de baixa concentração. O Limite de Deteção corresponde à menor concentração de analito que pode ser detetada (valor acima do Limite do Branco com uma probabilidade de 95%).

■ Intervalo de medição

Os sistemas da série BS da Mindray fornecem o seguinte intervalo de linearidade:

Tipo de amostra	Unidades S.I.	
	HbA1c%	3%-16% (NGSP/DCCT)
Sangue total	HbA1c	2-39 µmol/l
	Hb	60-300 µmol/l

HbA1c%: Uma amostra de alta concentração de HbA1c% (aproximadamente 16%) é misturada com uma amostra de baixa concentração (< 3%) em diferentes rácios, gerando uma série de diluições. A concentração de HbA1c% de cada diluição é determinada utilizando o Sistema Mindray; o intervalo de linearidade é demonstrado com o coeficiente de correlação $r \geq 0,9900$.

HbA1c (concentração de Hb ≥ 100 µmol/l): Uma amostra de HbA1c de alta concentração (aproximadamente 39 µmol/l) é misturada com uma amostra de baixa concentração (<2 µmol/l) em diferentes rácios, gerando uma série de diluições. A concentração de HbA1c de cada diluição é determinada utilizando o sistema Mindray; o intervalo de linearidade é demonstrado com o coeficiente de correlação $r \geq 0,9900$.

Hb: Uma amostra de Hb de alta concentração (aproximadamente 300 µmol/l) é misturada com uma amostra de baixa concentração (<60 µmol/l) em diferentes rácios, gerando uma série de diluições. A concentração de Hb de

cada diluição é determinada utilizando o Sistema Mindray; o intervalo de linearidade é demonstrado com o coeficiente de correlação $r \geq 0,9900$.

■ Precisão

A precisão foi determinada seguindo a Diretriz EP05-A3¹⁰ aprovada pelo CLSI; cada amostra foi analisada 2 vezes por execução, 2 execuções por dia, durante um total de 20 dias. Os dados de precisão (calculados de acordo com NGSP/DCCT) dos controles e amostras humanas no BS-600M são resumidos abaixo*.

Tipo de espécime (N=80)	Média (%)	Dentro da execução		Dentro do laboratório	
		DP (%)	CV %	DP (%)	CV %
Controlo N	5,16	0,02	0,35	0,02	0,44
Controlo P	10,28	0,02	0,18	0,03	0,29
Sangue total 1	5,47	0,02	0,32	0,03	0,54
Sangue total 2	6,63	0,02	0,33	0,03	0,45
Sangue total 3	9,32	0,02	0,22	0,04	0,46
Sangue total 4	11,38	0,03	0,27	0,05	0,41

*Representativo; os resultados em diferentes instrumentos e laboratórios podem variar.

■ Especificidade analítica

1. Substâncias endógenas e medicamentos

As amostras com diferentes concentrações de substância interferente foram preparadas adicionando a substância interferente a grupos de amostras humanas e as recuperações estão dentro de $\pm 5,0$ % do valor de controlo correspondente considerado como não havendo interferência significativa. Não se observou qualquer interferência significativa quando as seguintes substâncias foram testadas quanto à interferência com esta metodologia. Os dados (calculados de acordo com NGSP/DCCT) dos estudos de interferência no BS-600M são resumidos abaixo*.

Substância interferente	Concentração do interferente	Concentração de analito	Desvio relativo
Ácido ascórbico	3 mg/dl	6,64%	+0,41%
Bilirrubina conjugada	15 mg/dl	6,63%	-2,06%
Bilirrubina não conjugada	10 mg/dl	6,66%	-2,19%
Triglicérido	2000 mg/dl	6,67%	-0,10%
Melbin	5,1 mg/dl	6,61%	-0,40%
Ibuprofeno	50 mg/dl	6,59%	+0,15%
Acarbose	50 mg/dl	6,58%	-0,08%
Panadol	200 µg/ml	6,59%	-3,07%
Aspirina	50 mg/dl	6,56%	0,00%

**Dados representativos; os resultados em diferentes instrumentos e laboratórios podem variar.*

2. Derivados da Hemoglobina

As amostras com diferentes tipos de derivados da hemoglobina foram obtidas adicionando potenciais interferentes a grupos de amostras humanas, e as recuperações estão dentro de $\pm 5,0\%$ do valor de controlo correspondente considerado como não havendo interferência significativa. Não se observou qualquer interferência significativa quando se acrescentaram as seguintes substâncias com esta metodologia. Os dados (calculados de acordo com NGSP/DCCT) dos estudos de interferência no BS-600M são resumidos abaixo*.

Tipo de Derivados da Hemoglobina	Concentração de analito	Desvio relativo
Hemoglobina acetilada produzida por adição de ≥ 50 mg/dl de Aspirina	6,50%	+0,71%
Hemoglobina carbamilada produzida por adição de ≥ 10 mmol/l de cianato	6,61%	-1,43%
Hemoglobina lábil produzida por adição de ≥ 1000 mg/dl de glucose	6,61%	-1,13%

**Dados representativos; os resultados em diferentes instrumentos e laboratórios podem variar.*


3. Variantes da Hemoglobina

Avaliou-se a especificidade comparando os valores da Hemoglobina A1c com os valores de referência para amostras contendo hemoglobinas anormais e as recuperações estão dentro de $\pm 5,0\%$ do valor de controlo correspondente considerado como não havendo interferência significativa.

Advertências e precauções

1. Só para diagnósticos in vitro. Para uso profissional em laboratório.
2. O teste foi concebido apenas para medição exata e precisa de HbA1c%. Não se devem comunicar os resultados individuais para a concentração total de Hb e HbA1c.
3. Tomar as precauções necessárias para manipular todos os reagentes de laboratório.
4. Confirmar a integridade da embalagem antes da sua utilização. Não utilizar os kits com embalagens danificadas. Evitar a exposição direta à luz solar e o congelamento dos reagentes. Os resultados não podem ser assegurados quando estes são armazenados em condições inadequadas.
5. Se forem abertos involuntariamente antes de serem utilizados, conservar os reagentes bem fechados a 2-8 °C e protegidos da luz; a estabilidade é igual à estabilidade em utilização.
6. Não misturar reagentes com lotes diferentes.
Não utilizar os reagentes para além da data de validade e da data de utilização.
Não misturar os reagentes novos com os reagentes em utilização.
Evitar a formação de espuma.
7. Deve-se suspeitar de instabilidade ou deterioração se houver sinais visíveis de derrame, precipitação ou crescimento microbiano, ou se a calibração ou os controlos não cumprirem os critérios do folheto informativo e/ou os critérios do Sistema Mindray.
8. A fiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se não se seguirem as instruções deste folheto informativo.
9. Contém conservantes. Não engolir. Evitar o contacto com a pele e as membranas mucosas.
10. Quando os reagentes entram acidentalmente nos olhos e boca, ou em contacto com a pele, lavar imediatamente com bastante água. Se necessário, consultar o médico para tratamento médico adicional.
11. A ficha de dados de segurança está disponível para utilizadores profissionais mediante solicitação.
12. A eliminação de todos os resíduos deve ser feita de acordo com as diretrizes locais.
13. Todo o material humano deve ser considerado potencialmente infeccioso.
14. Todos os riscos identificados foram reduzidos tanto quanto possível sem afetar negativamente a relação benefício/risco, e o risco residual global é aceitável.

15. Qualquer acidente grave ocorrido em associação com o dispositivo deverá ser comunicado ao fabricante e à autoridade sanitária competente do Estado-membro onde estiver estabelecido o utilizador e/ou o doente.
16. Este kit contém componentes classificados da seguinte forma, de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1272/2008:

	
Perigo	
H317	Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
H360D	Pode afetar o nascituro.
H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
Prevenção:	
P201	Pedir instruções específicas antes da utilização.
P280	Usar luvas de proteção e vestuário de proteção.
P261	Evitar respirar as névoas/vapores/aerossóis.
P273	Evitar a libertação para o ambiente.
P272	A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.
Resposta:	
P308+P313	Em caso de exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
P302+P352	SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.
P333+P313	Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.
P362+P364	Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
Eliminação:	
P501	Eliminar o conteúdo/recipiente num centro autorizado de recolha de resíduos perigosos ou especiais de acordo com os eventuais regulamentos locais.

Referências

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Elsevier Saunders 2012;1441-1447.
2. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA et al. Tests of glycemia in diabetes. Diabetes Care, 1995;18:896-909.
3. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. Diabetes Care, 1994;17:938-939.
4. 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.
5. Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. Diabetes, 1993;42:1549-1554.
6. 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.
7. Nathan DM, Kuenen J, Borg R et al. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. Diabetes Care, 2008; 31:1473-1478.
8. Wu, Alan HB. Tietz clinical guide to laboratory tests. 4th ed. Elsevier Health Sciences, 2006; 480.
9. Hanas R, John G, International HbA1c Consensus Committee. 2010 Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. ClinChem Lab Med, 2010;48:775-776.
10. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
11. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Sample; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
12. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. Washington, DC: AACC Press; 2000:3-433,3-434.

Símbolos gráficos



In Vitro Diagnostic
medical device



Unique device
identifier



European
Conformity



Consult Instructions
For use



Use-by
date



Authorized representative in
the European Community



Batch Code



Temperature
limit



Manufacturer



Catalogue
number



Keep away from sunlight

Indicates a medical device that needs protection from light sources

© 2022-2023 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Todos os direitos reservados

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Morada: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-Tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057, P. R. China

Endereço eletrônico: service@mindray.com

Website: www.mindray.com

Telephone: +86-755-81888998; **Fax:** +86-755-26582680

Representante na CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH(Europe)

Morada: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany

Telephone: 0049-40-2513175; **Fax:** 0049-40-255726

HbA1c

Kit de hemoglobina A1c (Método de ensayo enzimático)

mindray



Información de pedido

Nº de cat.	Tamaño de envase
105-002165-00	R(Hb): 1×30 mL + R1(HbA1c): 1×30 mL + R2(HbA1c): 1×12 mL + R0: 1×150 mL
105-002166-00	R(Hb): 1×40 mL + R1(HbA1c): 1×40 mL + R2(HbA1c): 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-002167-00	R(Hb): 2×40 mL + R1(HbA1c): 2×40 mL + R2(HbA1c): 2×15 mL + R0: 2×150 mL
105-009338-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 3×40 mL
105-005737-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-005738-00	R1: 2×40 mL + R2: 2×15 mL + R0: 3×58 mL

Uso previsto

Prueba in vitro para la determinación cuantitativa de concentración de Hemoglobina A1c (HbA1c) en sangre humana completa en los analizadores químicos Mindray de la serie BS. Su uso previsto es el diagnóstico y la monitorización del efecto terapéutico de la diabetes.

Resumen¹⁻⁷

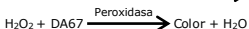
La Hemoglobina (Hb) está compuesta por cuatro cadenas proteicas con cuatro grupos hemo. Es la proteína con pigmento de color rojo ubicada en los eritrocitos. Su función principal es transportar oxígeno y dióxido de carbono en la sangre. Cada molécula de Hb se puede unir con cuatro moléculas de oxígeno. La Hb está compuesta por una variedad de subfracciones y derivados. En este grupo heterogéneo se encuentra una de las glucohemoglobinas, una subfracción formada por la fijación de distintos glúcidos a la molécula de Hb. La HbA1c se forma en dos pasos por la reacción no enzimática de la glucosa con el grupo amino terminal del extremo N de la cadena beta de la Hb de una persona adulta normal (HbA). El primer paso es reversible y produce la Hemoglobina HbA1c lábil. Ésta se reorganiza lentamente en el segundo paso de la reacción para producir HbA1c estable. En los eritrocitos, la cantidad relativa de HbA convertida a HbA1c estable aumenta con la concentración media de glucosa en sangre. La conversión a HbA1c estable queda limitada por la vida media del eritrocito de aproximadamente 100 a 120 días. Como resultado, la HbA1c refleja el nivel medio de glucosa en sangre durante los 2 a 3 meses anteriores. Por tanto, la medición de la HbA1c es adecuada para controlar la glucemia a largo plazo en personas con diabetes mellitus. Los niveles más recientes de glucosa tienen un impacto mayor en el nivel de HbA1c. Varios estudios han analizado la relación aproximada entre la HbA1c y el valor de glucemia medio durante

HbA1c

los 2 a 3 meses previos.

Principio del ensayo

Método de ensayo enzimático



En la primera reacción, la concentración de hemoglobina se mide según la absorbancia a una longitud de onda fija; de forma simultánea, los dipéptidos fructosil se generan a partir de los grupos amino terminales del extremo N de la cadena beta de la HbA1c mediante la reacción de proteinasa. En la segunda reacción, se produce la reacción de fructosil-péptido-oxidasa (FPOX) con los dipéptidos fructosil; el hidroperóxido generado permite que la sal de sodio 10-(carboximetil-aminocarbonilo)-3,7-bis(dimetilamino) fenotiazina (DA67) desarrolle un color en presencia de peroxidasa. Para determinar la HbA1c se mide el cambio en la absorbancia. El sistema usa los resultados de ensayos combinados para la hemoglobina y la HbA1c con el fin de calcular y expresar HbA1c%.

Componentes de los reactivos

	N,N-dimetilformamida	<10.0 g/L
	Cloruro cálcico	<2.0 g/L
R(Hb)/R1(HbA1c)/R1:	Proteinasa	> 500 KU/L
	DA67	0.1 mmol/L
	ProClin 300	0.05 %
	Azida sódica	<0.01 %
R2(HbA1c)/R2:	Peroxidasa	>1500 U/L
	Fructosil-péptido-oxidasa	>1500 U/L
R0(Solución de pretratamiento)	NaNO ₂	1.0 g/L
	ProClin 300	0.05 %

Almacenamiento y estabilidad

Hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se almacena sin abrir entre 2 y 8 °C, protegido de la luz.

Una vez iniciado su uso, los reactivos se mantienen estables durante 28 días si permanecen refrigerados en el analizador.

Evite la contaminación.

No congele el reactivo.

■ Inicio de la lisis

1. Consulte «Manual de operaciones del sistema de la serie B» -> «Procedimiento operativo general» -> «Prueba de sangre completa».
2. La proporción entre la muestra de glóbulos sanguíneos centrifugados y la solución de pretratamiento es de 10 ul:200 ul.
3. Advertencia: Para los tubos de anticoagulación, el total de la muestra debe llegar a una altura en el tubo igual o inferior a 55 mm, mientras que los glóbulos sanguíneos centrifugados deben llegar a una altura en el tubo igual o superior a 10 mm. Si no queda satisfecho, ajuste la altura del total de la muestra y de los glóbulos sanguíneos centrifugados o cambie al modo de lisis manual.
4. Advertencia: No se permite el uso de vasos de muestras ni de tubos para microcentrífuga Eppendorf.

■ Lisis manual

1. Extraiga 25 µL de glóbulos sanguíneos a partir de la sedimentación centrifugada en un vaso de muestras o en un tubo para microcentrífuga Eppendorf. Los glóbulos sanguíneos se absorben fácilmente en la sonda y en la pipeta para las muestras, lo que puede provocar que se supere el volumen objetivo.
2. Añada 500 µL de solución de pretratamiento en el tubo de prueba.
3. Cierre el tubo de prueba e inviértalo 10 veces o agítelo durante 10 segundos en el mezclador Vortex para realizar la hemólisis.
4. El hemolizado se puede usar como muestra de trabajo transcurridos 4 minutos.
5. Si fuera necesario, se pueden amplificar a partes iguales el volumen de glóbulos sanguíneos y la solución de pretratamiento.
6. Las muestras deben probarse tan pronto como sea posible después del tratamiento preanalítico.

■ Estabilidad de las muestras

Estabilidad de la sangre completa:	8 horas entre 15 °C y 25 °C
	7 días entre 2 °C y 8 °C ⁸
	30 días entre (-25) °C y (-15) °C
Estabilidad del hemolizado:	8 horas entre 15 °C y 25 °C
	24 horas entre 2 °C y 8 °C

No congele las muestras de sangre completa. Las declaraciones sobre la estabilidad de las muestras se han establecido de acuerdo con el fabricante o se han basado en referencias; cada laboratorio debe establecer sus criterios de estabilidad de las muestras.

Preparación del reactivo

R(Hb)/R1(HbA1c)/R1, R2(HbA1c)/R2 y la solución de pretratamiento están listos para utilizarse.

Realice el mantenimiento programado y las operaciones estándares, como la calibración y el análisis, para asegurar el rendimiento del sistema de medición.

Materiales requeridos pero no suministrados

1. Materiales de laboratorio generales: agua destilada o desionizada.
2. Calibrador y Control: Revise el apartado de las instrucciones del reactivo sobre Calibración y Control de calidad.
3. Analizadores químicos Mindray de la serie BS y equipo de laboratorio general.

Procedimiento del ensayo

■ Prueba no combinada

La Hb se probó con el reactivo R(Hb), mientras que la HbA1c se probó con el reactivo R1 (HbA1c)/R2(HbA1c).

■ Prueba combinada

La Hb y la HbA1c se probaron simultáneamente con el reactivo R1/R2.

1. Hb

Elemento de los parámetros	Analizadores químicos BS-800
Tipo de ensayo	Endpoint (Punto final)
Longitud de onda (principal o secundaria)	De 505 nm a 800 nm
Dirección de reacción	Increase (Aumentar)
R (Hb)/R1(HbA1c)	180 μ L
incuba a 37 °C durante 1 minuto, lea el valor de absorbancia A1 y, después, añada:	
Muestra o Calibrador	12 μ L
Mezcle profundamente, incuba a 37 °C durante 5 minutos y lea el valor de absorbancia A2.	
Después, calcule el valor $\Delta A_{\text{Hb-calibrador}} = \text{calibrador (A2-A1)}$, $\Delta A_{\text{Hb-sample}} = \text{muestra (A2-A1)}$	

2. HbA1c

Elemento de los parámetros	Analizadores químicos BS-800
Tipo de ensayo	Endpoint (Punto final)
Longitud de onda (principal o secundaria)	De 660 nm a 800 nm
Dirección de reacción	Increase (Aumentar)

R1 (HbA1c)/R1	180 µL
Muestra o Calibrador	12 µl
Mezcle, incube a 37 °C durante 5 minutos, lea el valor de absorbancia A1 y, después, añada:	
R2 (HbA1c)/R2	60 µL
Mezcle profundamente, incube a 37 °C durante 5 minutos y lea el valor de absorbancia A2.	
Después, calcule el valor $\Delta A_{\text{HbA1c-calibrator}} = \text{calibrador (A2-A1)}$,	
$\Delta A_{\text{HbA1c-sample}} = \text{muestra (A2-A1)}$	

3.HbA1c%

HbA1c% es la forma más común indicada en los informes. Resultados de los informes de Hemoglobina A1c en mmol/mol (IFCC) o porcentaje (NGSP):

Protocolo 1 según IFCC: $\text{HbA1c (mmol/mol)} = \text{HbA1c/Hb} \times 1000$

Protocolo 2 según NGSP/DCCT: $\text{HbA1c(\%)} = 91.5 \times \text{HbA1c/Hb} + 2.15$

Los parámetros pueden variar en distintos analizadores químicos y se pueden ajustar en proporción si fuera necesario. En el caso de los analizadores químicos Mindray de la serie BS, los parámetros de los reactivos están disponibles bajo pedido. Consulte las instrucciones de ensayo específicas del analizador en el manual de funcionamiento apropiado.

Calibración

1. Se recomienda utilizar el Calibrador Mindray (Calibrador HbA1c: 105-003680-00 u otros calibradores aptos) para la calibración de dos puntos. La trazabilidad del Calibrador HbA1c puede consultarse en las instrucciones de uso del calibrador de la empresa Mindray.

2. Frecuencia de calibración

En los analizadores químicos BS-800, la calibración se mantiene estable durante aproximadamente 28 días. La estabilidad de la calibración puede variar en distintos instrumentos; cada laboratorio debe establecer una frecuencia de calibración en los parámetros del instrumento apropiados para su patrón de uso.

Tal vez sea necesario repetir la calibración en los casos siguientes:

- Al cambiar de lote de reactivo.
- Cuando se requiera de acuerdo con los procedimientos de control de calidad o cuando los resultados no se ajusten al control de calidad.
- Al realizar procedimientos específicos de mantenimiento o resolución de problemas de los analizadores químicos.

3. Los valores del calibrador son específicos por lote y los modelos coincidentes se enumeran en la hoja de valores.

Control de calidad

1. Se recomienda utilizar el Control Mindray (Control HbA1c: 105-002140-00, 105-002138-00 u otros controles aptos) para comprobar el rendimiento del procedimiento de medición; también se pueden utilizar otros materiales de control apropiados.
2. Se recomiendan dos niveles de materiales de control para analizar cada lote de muestras. Además, el control debe realizarse en cada calibración nueva, con cada cartucho de reactivo nuevo y después de realizar procedimientos específicos de mantenimiento o resolución de problemas, tal como se detalla en el manual de operaciones apropiado.
3. Cada laboratorio debe establecer su esquema de control de calidad interno, así como los procedimientos de medidas correctivas si los controles no pueden mantenerse dentro de las tolerancias aceptables.

Cálculo

Muestra C = (muestra ΔA /calibrador ΔA) \times calibrador C.

Los analizadores químicos de la serie BS detectan el cambio de absorbancia (ΔA) y calculan automáticamente la concentración de Hb/HbA1c de cada muestra después de la calibración.

El sistema calcula los resultados de HbA1c y Hb en $\mu\text{mol/L}$ (unidades SI). Para convertir los resultados a g/dL (unidades comunes), se debe aplicar la ecuación siguiente:

Factor de conversión: $\mu\text{mol/L} \times 0.1354 = \text{g/dL}$.

Valores previstos⁹

Tipo de muestra		Unidades S.I.
Sangre completa	Según IFCC	De 20.20 a 42.06 mmol/mol
	Según NGSP/DCCT	Del 4 % al 6 %

El valor previsto se proporciona a partir del valor de referencia. Mindray lo ha verificado mediante 60 muestras de personas del sur de China.

Cada laboratorio debe establecer sus intervalos de referencia sobre la base de sus condiciones regionales particulares y las características de la población, ya que los valores previstos pueden variar según la zona geográfica, la raza, el sexo y la edad.

Características de funcionamiento

■ Sensibilidad analítica

El Kit de Hemoglobina A1c tiene una sensibilidad analítica de 60 $\mu\text{mol/L}$ para Hb y de 2 $\mu\text{mol/L}$ para HbA1c en el modelo BS-400. La sensibilidad analítica se define como la concentración más baja de analitos que puede distinguirse de una muestra que no contenga analitos. Se calcula como el valor situado 3 desviaciones estándar por encima de la media a partir de 20 réplicas de una muestra sin analitos.

■ Intervalo de medición

El intervalo de linealidad del sistema Mindray de la serie BS es el siguiente:

Tipo de muestra	Unidades S.I.
Sangre completa	Del 3 % al 16 % (NGSP/DCCT)

Se mezcla una muestra de HbA1c de concentración alta (aproximadamente el 16 %) con una muestra de concentración baja (<3 %) a proporciones distintas para que se genere una serie de diluciones. La concentración de HbA1c de cada dilución se determina mediante el sistema Mindray. El intervalo de linealidad se demuestra con el coeficiente de correlación $r \geq 0.9900$. El intervalo posible es del 3 % al 16 % (NGSP/DCCT), ya que la proporción no se puede resolver mediante dilución.

■ Precisión

La precisión se ha determinado de acuerdo con la directriz EP05-A3¹⁰ aprobada por el CLSI; cada muestra se ha ensayado 2 veces por secuencia, 2 secuencias por día, durante un total de 20 días. En las tablas siguientes se resumen los datos de precisión (calculados según NGSP/DCCT) de los controles realizados en BS-400*.

Tipo de muestra (N = 80)	Media (%)	En secuencia		En laboratorio	
		DE (%)	CV%	DE (%)	CV%
Control N	4,43	0,14	3,19	0,17	3,79
Control P	9,32	0,13	1,43	0,16	1,75

* Los datos o resultados representativos obtenidos en distintos instrumentos o laboratorios pueden variar.

■ Especificidad analítica

Las muestras con distinta concentración de sustancia interferencial se han preparado mediante la adición de agente interferencial a grupos de muestras humanas, y las recuperaciones deben estar en un ± 10.0 % del valor de control correspondiente para que se considere que no provocan una interferencia significativa.

2. Mezcle a fondo las muestras en un mezclador Vortex de baja velocidad o inviértalas suavemente 10 veces antes de cargarlas en el sistema Mindray de la serie BS.
3. La proporción entre la muestra de sangre completa y la solución de pretratamiento es de 10 μ l:200 μ l.
4. Advertencia: En los tubos de anticoagulación, el total de la muestra debe llegar a una altura de entre 10 mm y 55 mm. En caso contrario, ajuste la altura de la muestra o cambie al modo de lisis manual.
5. Advertencia: No se permite el uso de vasos de muestras ni de tubos para microcentrífuga Eppendorf.

■ Lisis manual

1. Mezcle a fondo las muestras en un mezclador Vortex de baja velocidad o inviértalas suavemente 10 veces.
2. Extraiga 10 μ l de sangre completa en un vaso de muestras o en un tubo para microcentrífuga Eppendorf. La sangre completa se absorbe fácilmente en la sonda y en la pipeta para las muestras, lo que puede provocar que se supere el volumen objetivo.
3. Añada 200 μ l de solución de pretratamiento en el tubo de prueba.
4. Cierre el tubo de prueba e inviértalo 10 veces o agítelo durante 10 segundos en el mezclador Vortex para realizar la hemólisis.
5. El hemolizado se puede usar como muestra de trabajo transcurridos 4 minutos.
6. Si fuera necesario, se pueden amplificar a partes iguales el volumen de sangre completa y la solución de pretratamiento.
7. Las muestras deben probarse tan pronto como sea posible después del tratamiento preanalítico.

■ Estabilidad de las muestras

Estabilidad de la sangre completa:	8 horas entre 15 °C y 25 °C
	7 días entre 2 °C y 8 °C ⁸
	30 días entre (-25) °C y (-15) °C
Estabilidad del hemolizado:	8 horas entre 15 °C y 25 °C
	24 horas entre 2 °C y 8 °C

Las declaraciones sobre la estabilidad de las muestras se han establecido de acuerdo con el fabricante o se han basado en referencias; cada laboratorio debe establecer sus criterios de estabilidad de las muestras.

Materiales requeridos pero no suministrados

1. Analizadores químicos Mindray BS-600M u otros que tienen la función de analizar HbA1c mediante muestras de sangre completa sin centrifugación y equipo de laboratorio general.

Procedimiento del ensayo

Prueba combinada: La concentración de Hb y HbA1c se ha probado con el reactivo R1/R2.

1.Hb

Elemento de los parámetros	Analizadores químicos BS-600M
Tipo de ensayo	Endpoint (Punto final)
Longitud de onda (principal o secundaria)	De 505 nm a 800 nm
Dirección de reacción	Increase (Aumentar)
R1	90 μ L
incube a 37 °C durante 1 minuto, lea el valor de absorbancia A1 y, después, añada:	
Muestra o Calibrador	8 μ L
Mezcle profundamente, incube a 37 °C durante 5 minutos y lea el valor de absorbancia A2.	
Después, calcule el valor $\Delta A_{\text{Hb-calibrador}} = \text{calibrador (A2-A1)}$,	
$\Delta A_{\text{Hb-sample}} = \text{muestra (A2-A1)}$	

2.HbA1c

Elemento de los parámetros	Analizadores químicos BS-600M
Tipo de ensayo	Endpoint (Punto final)
Longitud de onda (principal o secundaria)	De 660 nm a 800 nm
Dirección de reacción	Increase (Aumentar)
R1	90 μ L
Muestra o Calibrador	8 μ L
Mezcle, incube a 37 °C durante 5 minutos, lea el valor de absorbancia A1 y, después, añada:	
R2:	30 μ L
Mezcle profundamente, incube a 37 °C durante 5 minutos y lea el valor de absorbancia A2.	
Después, calcule el valor $\Delta A_{\text{HbA1c-calibrador}} = \text{calibrador (A2-A1)}$,	
$\Delta A_{\text{HbA1c-sample}} = \text{muestra (A2-A1)}$	

3. HbA1c%

HbA1c% es la forma más común indicada en los informes. Resultados de los informes de Hemoglobina A1c en mmol/mol (IFCC) o porcentaje (NGSP):

Protocolo 1 según IFCC: $HbA1c \text{ (mmol/mol)} = HbA1c/Hb \times 1000$

Protocolo 2 según NGSP/DCCT: $HbA1c(\%) = 91.5 \times HbA1c/Hb + 2.15$

Los parámetros pueden variar en distintos analizadores químicos y se pueden ajustar en proporción si fuera necesario. En el caso de los analizadores químicos Mindray de la serie BS, los parámetros de los reactivos están disponibles bajo pedido. En el manual de funcionamiento apropiado, encontrará información sobre los analizadores.

"Calibración" y "Control de calidad" se refieren a la sección de "HbA1c utilizada en el ensayo mediante muestras de sangre completa con centrifugación".

Cálculo

Muestra C = (muestra ΔA /calibrador ΔA) \times calibrador C.

Los analizadores químicos de la serie BS detectan el cambio de absorbancia (ΔA) y calculan automáticamente la concentración de Hb/HbA1c de cada muestra después de la calibración.

El sistema calcula los resultados de HbA1c y Hb en $\mu\text{mol/L}$ (unidades SI). Para convertir los resultados a g/dL (unidades comunes), se debe aplicar la ecuación siguiente:

Factor de conversión: $\mu\text{mol/L} \times 0.1354 = \text{g/dL}$.

Dilución

Si el valor de la muestra supera los 300 $\mu\text{mol/L}$ (Hb) o los 39 $\mu\text{mol/L}$ (HbA1c), debe diluir la muestra con solución de pretratamiento (p. ej., 1 + 1) y repetir la prueba; el resultado de Hb y HbA1c debe multiplicarse por 2. No se requiere ningún factor de conversión para los resultados en mmol/mol de HbA1c (IFCC) y en % de HbA1c (DCCT/NGSP).

Valores previstos⁹

Tipo de muestra		Unidades S.I.
Sangre completa	Según IFCC	De 20.20 a 42.06 mmol/mol
	Según NGSP/DCCT	Del 4 % al 6 %

El valor previsto se proporciona a partir del valor de referencia. Mindray lo ha verificado mediante 60 muestras de personas del sur de China.

Cada laboratorio debe establecer sus intervalos de referencia sobre la base de sus condiciones regionales particulares y las características de la

población, ya que los valores previstos pueden variar según la zona geográfica, la raza, el sexo y la edad.

Características de funcionamiento

■ Sensibilidad analítica

En el modelo BS-600M, el límite de valor en blanco (LoB) y el límite de detección (LoD) se han determinado de acuerdo con la directriz EP17-A2 aprobada por el CLSI.

Hb:	HbA1c:	HbA1c% (NGSP/DCCT):
LoB = 4.55 $\mu\text{mol/L}$	LoB = 1.12 $\mu\text{mol/L}$	LoB = 2.97 %
LoD = 4.94 $\mu\text{mol/L}$	LoD = 1.17 $\mu\text{mol/L}$	LoD = 3.01 %

El límite de valor en blanco es el valor del 95.º percentil entre $n \geq 60$ mediciones de una o varias muestras sin analitos a través de diversas series independientes. El límite de valor en blanco corresponde a la concentración por debajo de la cual se encuentran muestras sin analitos con una probabilidad del 95 %.

El límite de detección se determina según el límite de valor en blanco y la desviación estándar de las muestras de concentración baja. El límite de detección corresponde a la concentración de analitos más baja que puede detectarse (valor por encima del límite de valor en blanco con una probabilidad del 95 %).

■ Intervalo de medición

El intervalo de linealidad del sistema Mindray de la serie BS es el siguiente:

Tipo de muestra		Unidades S.I.
Sangre completa	HbA1c%	Del 3 % al 16 % (NGSP/DCCT)
	HbA1c	De 2 $\mu\text{mol/L}$ a 39 $\mu\text{mol/L}$
	Hb	De 60 $\mu\text{mol/L}$ a 300 $\mu\text{mol/L}$

HbA1c%: Se mezcla una muestra de HbA1c% de concentración alta (aproximadamente el 16 %) con una muestra de concentración baja (<3 %) a proporciones distintas para que se genere una serie de diluciones. La concentración de HbA1c% de cada dilución se determina mediante el sistema Mindray. El intervalo de linealidad se demuestra con el coeficiente de correlación $r \geq 0.9900$.

HbA1c (concentración de Hb $\geq 100 \mu\text{mol/L}$): Se mezcla una muestra de HbA1c de concentración alta (aproximadamente 39 $\mu\text{mol/L}$) con una muestra de concentración baja (<2 $\mu\text{mol/L}$) a proporciones distintas para

que se genere una serie de diluciones. La concentración de HbA1c% de cada dilución se determina mediante el sistema Mindray. El intervalo de linealidad se demuestra con el coeficiente de correlación $r \geq 0.9900$.

Hb: Se mezcla una muestra de Hb de concentración alta (aproximadamente 300 $\mu\text{mol/L}$) con una muestra de concentración baja ($< 60 \mu\text{mol/L}$) a proporciones distintas para que se genere una serie de diluciones. La concentración de Hb de cada dilución se determina mediante el sistema Mindray. El intervalo de linealidad se demuestra con el coeficiente de correlación $r \geq 0.9900$.

■ Precisión

La precisión se ha determinado de acuerdo con la directriz EP05-A3¹⁰ aprobada por el CLSI; cada muestra se ha ensayado 2 veces por secuencia, 2 secuencias por día, durante un total de 20 días. A continuación se resumen los datos de precisión (calculados según NGSP/DCCT) de los controles y de las muestras humanas en BS-600M*.

Tipo de muestra (N = 80)	Media (%)	En secuencia		En laboratorio	
		DE (%)	CV%	DE (%)	CV%
Control N	5,16	0,02	0,35	0,02	0,44
Control P	10,28	0,02	0,18	0,03	0,29
Sangre completa 1	5,47	0,02	0,32	0,03	0,54
Sangre completa 2	6,63	0,02	0,33	0,03	0,45
Sangre completa 3	9,32	0,02	0,22	0,04	0,46
Sangre completa 4	11,38	0,03	0,27	0,05	0,41

* Los resultados representativos obtenidos en distintos instrumentos o laboratorios pueden variar.

■ Especificidad analítica

1. Sustancias endógenas y fármacos

Las muestras con distinta concentración de sustancia interferencial se han preparado mediante la adición de agente interferencial a grupos de muestras humanas, y las recuperaciones deben estar en un $\pm 5.0 \%$ del valor de control correspondiente para que se considere que no provocan una interferencia significativa.

No se ha observado ninguna interferencia significativa al analizar el grado de interferencia en las sustancias siguientes con esta metodología. A continuación se resumen los datos (calculados según NGSP/DCCT) de los estudios de interferencia realizados en BS-600M*.

Interferencial Sustancia	Concentración de agente interferencial	De analitos Concentración	Desviación relativa
Ácido ascórbico	3 mg/dl	6.64 %	+0.41 %
Bilirrubina conjugada	15 mg/dl	6.63 %	-2.06 %
Bilirrubina no conjugada	10 mg/dl	6.66 %	-2.19 %
Triglicérido	2000 mg/dl	6.67 %	-0.10 %
Melbina	5.1 mg/dL	6.61 %	-0.40 %
Ibuprofeno	50 mg/dL	6.59 %	+0.15 %
Acarbosa	50 mg/dL	6.58 %	-0.08 %
Panadol	200 µg/mL	6.59 %	-3.07 %
Aspirina	50 mg/dl	6.56 %	0.00 %

* Los datos o resultados representativos obtenidos en distintos instrumentos o laboratorios pueden variar.

2. Derivados de la Hemoglobina

Se han obtenido muestras con distintos tipos de derivados de la hemoglobina mediante la adición de agente interferencial potencial a grupos de muestras humanas, y las recuperaciones deben estar en un ± 5.0 % del valor de control correspondiente para que se considere que no provocan una interferencia significativa.

No se ha observado ninguna interferencia significativa al añadir las sustancias siguientes con esta metodología. A continuación se resumen los datos (calculados según NGSP/DCCT) de los estudios de interferencia realizados en BS-600M*.

Tipos de derivados de la hemoglobina	De analitos Concentración	Desviación relativa
Hemoglobina acetilada generada mediante la adición de ≥ 50 mg/dL de aspirina	6.50 %	+0.71 %
Hemoglobina carbamilada generada mediante la adición de ≥ 10 mmol/L de cianato	6.61 %	-1.43 %
Hemoglobina lábil generada mediante la adición de ≥ 1000 mg/dL de glucosa	6.61 %	-1.13 %

* Los datos o resultados representativos obtenidos en distintos instrumentos o laboratorios pueden variar.


3. Variantes de la Hemoglobina

Para evaluar la especificidad, se han comparado los valores de Hemoglobina A1c con los valores de referencia en muestras que contenían hemoglobinas anómalas, y las recuperaciones deben estar en un ± 5.0 % del valor de control correspondiente para que se considere que no provocan una

Advertencias y precauciones

1. Solo para uso diagnóstico in vitro. Para uso profesional en laboratorio.
2. Esta prueba se ha diseñado únicamente para la medición precisa y exacta de HbA1c%. No se debe informar de los resultados individuales de la concentración de HbA1c y Hb total.
3. Tome las precauciones necesarias para manejar todos los reactivos de laboratorio.
4. Confirme la integridad del envase antes de su uso. No utilice los kits de envases en mal estado. Evite que los reactivos se expongan directamente a la luz solar y a temperaturas de congelación. Los resultados no son fiables cuando se almacenan en condiciones que no son las apropiadas.
5. Si abre el envase involuntariamente antes de su uso, tape herméticamente los tubos de los reactivos, almacénelos entre 2 °C y 8 °C y protéjalos de la luz para conservar la misma estabilidad que al utilizarlos.
6. No mezcle reactivos de diferentes lotes.
No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
No mezcle reactivos sin usar con reactivos usados.
Evite la formación de espuma.
7. Debe sospecharse la posibilidad de inestabilidad o deterioro en caso de signos visibles de fugas, precipitados o crecimiento microbiano, o si la calibración o los controles no cumplen los criterios del prospecto o del sistema Mindray.
8. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si no se siguen las instrucciones del prospecto del envase.
9. Contiene conservantes. No ingerir. Evite el contacto con la piel y las membranas mucosas.
10. Si los reactivos entran accidentalmente en contacto con los ojos, la boca o la piel, lave la zona de inmediato con agua abundante. Si fuese necesario, consulte a su médico algún tratamiento.
11. La hoja de datos de seguridad del material está disponible para el usuario profesional previa solicitud.
12. Los residuos deben desecharse de acuerdo con las normativas locales.
13. Todo material humano debe ser considerado como potencialmente infeccioso.
14. Todos los riesgos identificados se han reducido tanto como ha sido posible sin afectar negativamente a la proporción beneficio-riesgo; el riesgo residual general es aceptable.
15. Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el dispositivo se comunicará al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro donde se encuentren el usuario o el paciente.
16. Este kit contiene componentes clasificados de la manera indicada a

continuación de acuerdo con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:

	
Peligro	
H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
H360D	Puede dañar al nonato.
H412	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
Prevención:	
P201	Obtenga instrucciones especiales antes de utilizarlo.
P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P261	Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
P273	Evitar su liberación al medio ambiente.
P272	Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.
Respuesta:	
P308 + P313	SI sufre exposición o tiene alguna preocupación: consultar a un médico.
P302 + P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
Eliminación:	
P501	Eliminar el contenido/el recipiente en un punto de recogida de residuos peligrosos o especiales autorizado de acuerdo con la normativa local.

Referencias

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5.ª edición Elsevier Saunders 2012; 1441-1447.
2. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA et al. Tests of glycemia in diabetes. Diabetes Care, 1995; 18:896-909.

3. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care*, 1994; 17:938-939.
4. 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.
5. Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes*, 1993; 42:1549-1554.
6. 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.
7. Nathan DM, Kuenen J, Borg R et al. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. *Diabetes Care*, 2008; 31:1473-1478.
8. Wu, Alan HB. *Tietz clinical guide to laboratory tests*. 4.^a edición Elsevier Health Sciences, 2006; 480.
9. Hanas R, John G, International HbA1c Consensus Committee. 2010 Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. *ClinChem Lab Med*, 2010; 48:775-776.
10. CLSI. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition*. documento EP05-A3 del CLSI. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
11. CLSI. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Sample; Approved Guideline-Third Edition*. Documento EP09-A3 del CLSI. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
12. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5.^a edición Washington, DC: AACC Press; 2000:3-433, 3-434.

Símbolos gráficos



In Vitro Diagnostic
medical device



Unique device
identifier



European
Conformity



Consult Instructions:
For use



Use-by
date



Authorized representative in
the European Community



Batch Code



Temperature
limit



Manufacturer



Catalogue
number



Keep away from sunlight

Indicates a medical device that needs protection from light sources

© 2022-2023 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Todos los derechos reservados.

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Dirección: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-Tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057, República Popular de China

Dirección de correo electrónico: service@mindray.com

Página web: www.mindray.com

Teléfono: +86-755-81888998; **Fax:** +86-755-26582680

Representante en la UE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Dirección: Eiffestraße 80, Hamburgo 20537, Alemania

Teléfono: 0049-40-2513175; **Fax:** 0049-40-255726

HbA1c

Kit per Emoglobina A1c (metodo di dosaggio enzimatico)

mindray



Informazioni per gli ordini

N. cat.	Dimensioni della confezione
105-002165-00	R(Hb): 1×30 mL + R1(HbA1c): 1×30 mL + R2(HbA1c): 1×12 mL + R0: 1×150 mL
105-002166-00	R(Hb): 1×40 mL + R1(HbA1c): 1×40 mL + R2(HbA1c): 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-002167-00	R(Hb): 2×40 mL + R1(HbA1c): 2×40 mL + R2(HbA1c): 2×15 mL + R0: 2×150 mL
105-009338-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 3×40 mL
105-005737-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-005738-00	R1: 2×40 mL + R2: 2×15 mL + R0: 3×58 mL

Destinazione d'uso

Test in vitro per la determinazione quantitativa della concentrazione di Emoglobina A1c (HbA1c) nel sangue umano intero tramite analizzatori chimici Mindray, serie BS. Da utilizzarsi per la diagnosi e il monitoraggio dell'effetto terapeutico nel diabete.

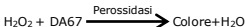
Riepilogo¹⁻⁷

L'Emoglobina (Hb) è costituita da quattro catene proteiche con quattro porzioni eme ed è la proteina con pigmentazione rossa presente negli eritrociti. La sua funzione principale è trasportare ossigeno e anidride carbonica nel sangue. Ogni molecola di emoglobina può legarsi a quattro molecole di ossigeno. L'emoglobina è costituita da una vasta gamma di sottofrazioni e derivati che includono l'emoglobina glicata, una sottofrazione che si forma in seguito al legame tra le molecole di emoglobina e vari tipi di zuccheri. L'HbA1c si forma in due passaggi durante la reazione non enzimatica del glucosio con il gruppo amminico N-terminale della catena β dell'emoglobina adulta normale (HbA). Il primo passaggio è reversibile e genera HbA1c instabile, che si assesta durante la seconda fase della reazione per produrre HbA1c stabile. Negli eritrociti, la quantità relativa di HbA convertita in HbA1c stabile aumenta con la concentrazione media del glucosio nel sangue. La conversione in HbA1c stabile è limitata dalla vita media degli eritrociti, pari a circa 100-120 giorni. Di conseguenza, il livello di HbA1c rispecchia il livello medio di glucosio nel sangue durante i 2-3 mesi precedenti. È pertanto possibile utilizzare l'HbA1c per il monitoraggio a lungo termine del glucosio ematico nelle persone affette da diabete mellito. I livelli di glucosio più recenti influiscono maggiormente sul livello di HbA1c. La relazione approssimativa tra HbA1c e valore medio del glucosio ematico nel corso dei 2-3 mesi precedenti è stata analizzata in vari studi.

HbA1c

Principio del test

Metodo di dosaggio enzimatico



Durante la prima reazione, la concentrazione di emoglobina viene determinata tramite la lettura dell'assorbanza di una lunghezza d'onda fissa e contemporaneamente, con la reazione della proteasi, i gruppi amminici N-terminali della catena β dell'HbA1c generano i fruttosil-dipeptidi. Durante la seconda fase, la reazione tra fruttosil peptide ossidasi (FPOX) e fruttosil-dipeptidi genera perossido di idrogeno, consentendo al 10-(carbossimetil-amminocarbonil)-3,7-bis(dimetilammino) sale sodico di fenotiazina (DA67) di generare un prodotto colorato in presenza di perossidasi. Il livello di HbA1c viene determinato misurando l'assorbanza. Il sistema usa i risultati combinati del dosaggio per emoglobina e HbA1c per calcolare e restituire la percentuale di HbA1c.

Componenti dei reagenti

	N,N-Dimetilformammide	<10,0 g/L
	Cloruro di calcio	<2,0 g/L
R(Hb)/R1(HbA1c)/R1:	Proteasi	>500 KU/L
	DA67	0,1 mmol/l
	ProClin 300	0,05%
	Azoturo di sodio	<0,01%
R2(HbA1c)/R2:	Perossidasi	>1500 U/L
	Fruttosil peptide ossidasi	>1500 U/L
R0(Soluzione di pretrattamento)	NaNO ₂	1,0 g/L
	ProClin 300	0,05%

Conservazione e stabilità

Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta con flacone sigillato conservato a una temperatura di 2-8°C al riparo dalla luce.

Quando in uso nel sistema, i reagenti rimangono stabili per 28 giorni, se refrigerati nell'analizzatore.

Evitare la contaminazione.

Non congelare il reagente.

3. Avvertenza: per le provette con anticoagulante, l'altezza del campione totale nella provetta non deve essere superiore a 55mm e l'altezza del campione centrifugato di globuli sanguigni non deve essere inferiore ai 10mm. Se non si è soddisfatti, regolare all'altezza del campione totale e del campione centrifugato di globuli sanguigni o modificare la lisi manuale.
4. Avvertenza: le micro-coppette e le provette per microcentrifuga Eppendorf non sono consentite.

■ Lisi manuale

1. Prelevare 25 μ L di globuli sanguigni centrifugati depositati nella coppetta o da una provetta per microcentrifuga Eppendorf. I globuli sanguigni vengono facilmente assorbiti dalla sonda di campionamento e dalla pipetta, il che potrebbe far superare il volume desiderato.
2. Aggiungere 500 μ L di Soluzione di pretrattamento nella provetta.
3. Chiudere la provetta e procedere alla lisi del sangue capovolgendola 10 volte o agitandola per 10s sull'agitatore Vortex.
4. L'emolizzato può essere utilizzato come campione di lavoro dopo 4 minuti.
5. Se necessario, è possibile amplificare il volume dei globuli sanguigni e della soluzione di pretrattamento in pari proporzioni.
6. I campioni devono essere testati il più presto possibile dopo il trattamento preanalitico.

■ Stabilità dei campioni

Stabilità del sangue intero:	8 ore a 15-25°C
	7 giorni a 2-8°C ^B
	30 giorni a (-25)-(-15)°C
Stabilità dell'emolizzato:	8 ore a 15-25°C
	24 ore a 2-8°C

Non congelare i campioni di sangue intero. Le richieste di stabilità sono state stabilite dal produttore e/o sono basate su riferimenti: ogni laboratorio deve stabilire i propri criteri di stabilità del campione.

Preparazione dei reagenti

I reagenti R(Hb)/R1(HbA1c)/R1, R2(HbA1c)/R2 e la Soluzione di pretrattamento sono pronti all'uso.

Per garantire la prestazione del sistema di misurazione, eseguire le operazioni di manutenzione programmata e le operazioni standard, incluse calibrazione e analisi.

Materiali necessari, ma non forniti

1. Materiali generici di laboratorio: acqua distillata/deionizzata.
2. Calibratore e Controllo: Controllare la parte relativa alle istruzioni di Calibrazione e Controllo qualità del reagente.
3. Analizzatori chimici Mindray, serie BS, e attrezzatura generica di

laboratorio.

Procedura del test

■ Non-twin test (prova non in abbinamento)

L'Hb è stata testata utilizzando il reagente R(Hb) e l'HbA1c è stata testata utilizzando il reagente R1 (HbA1c)/R2(HbA1c).

■ Twin test (prova in abbinamento)

L'Hb e l'HbA1c sono stati testati contemporaneamente utilizzando il reagente R1/R2.

1. Emoglobina

Parametri	Analizzatori chimici BS-800
Tipo di test	Endpoint
Lunghezza d'onda (Principale/Secondaria)	505/800 nm
Direzione della reazione	Incremento
R (Hb)/R1(HbA1c)	180 μ L
Incubare a 37°C per 1 minuto, leggere il valore dell'assorbanza A1, quindi aggiungere:	
Campione o Calibratore	12 μ L
Miscelare accuratamente, incubare a 37°C per 5 minuti, leggere il valore di assorbanza A2.	
Quindi, calcolare $\Delta A_{\text{Calibratore-Hb}} = \text{Calibratore (A2-A1)}$, $\Delta A_{\text{Campione Hb}} = \text{Campione (A2-A1)}$	

2. HbA1c

Parametri	Analizzatori chimici BS-800
Tipo di test	Endpoint
Lunghezza d'onda (Principale/Secondaria)	660/800 nm
Direzione della reazione	Incremento
R1 (HbA1c)/R1	180 μ L
Campione o Calibratore	12 μ L
Miscelare, incubare a 37°C per 5 minuti, leggere il valore dell'assorbanza A1, quindi aggiungere:	
R2 (HbA1c)/R2	60 μ L
Miscelare accuratamente, incubare a 37°C per 5 minuti, leggere il valore di assorbanza A2.	
Quindi, calcolare $\Delta A_{\text{Calibratore HbA1c}} = \text{Calibratore (A2-A1)}$,	

$$\Delta A_{\text{Campione HbA1c}} = \text{Campione (A2-A1)}$$

3. HbA1c%

La forma più utilizzata nei rapporti di prova è la percentuale di HbA1c. Riportare i risultati dell'emoglobina A1c in mmol/mol (IFCC) o in percentuale (NGSP):

Protocollo 1 secondo IFCC: $\text{HbA1c (mmol/mol)} = \text{HbA1c/Hb} \times 1000$

Protocollo 2 secondo NGSP/DCCT: $\text{HbA1c(\%)} = 91,5 \times \text{HbA1c / Hb} + 2,15$

I parametri possono variare in diversi analizzatori chimici; se necessario è possibile regolare le proporzioni. Per gli analizzatori chimici Mindray serie BS, i parametri dei reagenti sono disponibili su richiesta. Per le istruzioni specifiche per i test su ciascun tipo di analizzatore, consultare il relativo manuale d'uso.

Calibrazione

1. È consigliabile utilizzare il Calibratore Mindray (Calibratore HbA1c: 105-003680-00 o altri calibratori idonei) per la calibrazione a due punti. Per la tracciabilità del Calibratore HbA1c, fare riferimento alle istruzioni per l'uso del calibratore di Mindray.

2. Frequenza di calibrazione

Negli analizzatori chimici BS-800 la calibrazione è stabile per circa 28 giorni. La stabilità della calibrazione può variare nei diversi strumenti; ogni laboratorio deve impostare una frequenza di calibrazione dei parametri dello strumento idonea per le proprie modalità di utilizzo.

Potrebbe rendersi necessaria una nuova calibrazione quando si verificano le seguenti condizioni:

- al cambio del lotto di reagenti;
- secondo necessità, attenendosi alle procedure di controllo della qualità o fuori controllo;
- dopo specifiche procedure di manutenzione o di risoluzione dei problemi di analizzatori chimici.

3. I valori del calibratore sono specifici per lotto e i modelli abbinati sono elencati nella scheda dei valori.

Controllo della qualità

1. È consigliabile utilizzare il Controllo Mindray (Controllo HbA1c: 105-002140-00, 105-002138-00 o altri controlli appropriati) per verificare le prestazioni della procedura di misurazione. È possibile utilizzare anche altri materiali di controllo appropriati aggiuntivi.

2. Si raccomanda di analizzare ogni lotto di campioni con due livelli di materiale di controllo. Inoltre, il controllo deve essere eseguito ad ogni

nuova calibrazione, ad ogni cambio di cartuccia di reagente e dopo specifiche procedure di manutenzione o di risoluzione dei problemi, come indicato nel manuale specifico del sistema.

3. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire schemi e procedure interni di controllo qualità, in modo da adottare misure correttive se i risultati non rientrano nelle tolleranze accettabili.

Calcolo

Campione C = (campione ΔA /calibratore ΔA) \times calibratore C.

L'analizzatore chimico serie BS rileva la variazione di assorbanza (ΔA) e calcola automaticamente la concentrazione di Hb/HbA1c di ogni campione dopo la calibrazione.

Il sistema restituisce i valori dell'HbA1c e dell'Hb in $\mu\text{mol/L}$ (unità S.I.). Per convertire i risultati in g/dL (unità comuni), utilizzare la seguente equazione: Fattore di conversione: $\mu\text{mol/l} \times 0,1354 = \text{g/dL}$.

Valori attesi⁹

	Tipo di campione	Unità S.I.
Sangue intero	Secondo IFCC	20,20-42,06 mmol/mol
	Secondo NGSP/DCCT	4,0%-6,0%

Il valore atteso viene fornito dal riferimento e Mindray lo ha verificato in 60 campioni di soggetti provenienti dalla Cina meridionale.

Ogni laboratorio deve stabilire gli intervalli di riferimento in base alle caratteristiche specifiche della popolazione e del luogo in quanto i valori attesi possono variare in base all'area geografica, alla razza, al sesso e all'età.

Caratteristiche delle prestazioni

■ Sensibilità analitica

Il Kit per Emoglobina A1c presenta una sensibilità analitica di 60 $\mu\text{mol/L}$ per Hb, 2 $\mu\text{mol/L}$ per HbA1c sull'analizzatore BS-400. Si definisce sensibilità analitica la concentrazione di analita più bassa distinguibile da un campione che non contiene analita, che corrisponde al valore che si trova 3 deviazioni standard al di sopra di quello della media derivante da 20 determinazioni ripetute di un campione privo di analita.

■ Intervallo di misurazione

Il sistema della serie BS di Mindray garantisce il seguente intervallo di linearità:

Tipo di campione	Unità S.I.
Sangue intero	3%-16% (NGSP/DCCT)

HbA1c

mindray

Un campione ad alta concentrazione di HbA1c (circa il 16%) viene miscelato con un campione a bassa concentrazione (<3%) a diversi rapporti, generando una serie di diluizioni. La concentrazione di HbA1c di ciascuna diluizione viene determinata utilizzando l'analizzatore Mindray; l'intervallo di linearità viene dimostrato con il coefficiente di correlazione $r \geq 0.9900$. L'intervallo di riferimento è 3%-16% (NGSP/DCCT), in quanto il rapporto non può essere risolto attraverso la diluizione.

■ Precisione

La precisione è stata determinata in base alla Linea guida approvata CLSI EP05-A3¹⁰, ogni campione è stato testato 2 volte per ciclo, 2 cicli al giorno, per un totale di 20 giorni. I dati relativi alla precisione (calcolati in base al sistema NGSP/DCCT) dei controlli sull'analizzatore BS-400 sono riepilogati nelle tabelle che seguono*.

Tipo di campione (N=80)	Media (%)	Nell'ambito del ciclo		All'interno del laboratorio	
		SD (%)	CV %	SD (%)	CV%
Controllo N	4,43	0,14	3,19	0,17	3,79
Controllo P	9,32	0,13	1,43	0,16	1,75

*I dati rappresentativi e i risultati nei diversi strumenti e laboratori possono variare.

■ Specificità analitica

I campioni con sostanza interferente a diverse concentrazioni sono stati preparati aggiungendo la sostanza interferente a pool di campioni umani e i recuperi sono rientrati nel $\pm 10,0$ % del corrispondente valore di controllo, che possono essere considerati privi di interferenza significativa.

Non sono state osservate interferenze significative testando con questa procedura per la verifica delle interferenze le sostanze sotto elencate. I dati (calcolati in base al sistema NGSP/DCCT) degli studi di interferenza sull'analizzatore BS-400 sono riepilogati di seguito*.

Sostanza interferente	Concentrazione della sostanza interferente (mg/dL)	Concentrazione dell'analita (HbA1c%)	Deviazione relativa (%)*
Acido ascorbico	30	9,03	-2,21
Bilirubina	50	8,93	+2,61
Intralipid	2000	8,87	-2,26
Glucosio	1000	8,97	-4,83

*I dati rappresentativi e i risultati nei diversi strumenti e laboratori possono variare.

2. Miscelare accuratamente tutti i campioni con il Vortex a bassa velocità o capovolgendoli delicatamente 10 volte prima di caricarli sull'analizzatore Mindray serie BS.
3. La proporzione tra il campione di sangue intero e la soluzione di pretrattamento è 10ul:200ul.
4. Avvertenza: Per le provette di anticoagulante, l'altezza del campione totale nella provetta deve essere compresa tra i 10mm e i 55mm. Se tale valore è fuori intervallo, regolare l'altezza del campione o passare alla lisi manuale.
5. Avvertenza: le micro-coppette e le provette per microcentrifuga Eppendorf non sono consentite.

■ Lisi manuale

1. Miscelare accuratamente tutti i campioni con il Vortex a bassa velocità o capovolgendoli delicatamente 10 volte.
2. Prelevare 10 µL di sangue intero nella coppetta o da una provetta per microcentrifuga Eppendorf. Il sangue intero viene facilmente assorbito sulla sonda di campionamento e sulla pipetta, il che potrebbe far superare il volume desiderato.
3. Aggiungere 200 µL di Soluzione di pretrattamento nella provetta.
4. Chiudere la provetta e procedere alla lisi del sangue capovolgendola 10 volte o agitandola per 10s sull'agitatore Vortex.
5. L'emolizzato può essere utilizzato come campione di lavoro dopo 4 minuti.
6. Se necessario, è possibile amplificare il volume del sangue intero e della soluzione di pretrattamento in pari proporzioni.
7. I campioni devono essere testati il più presto possibile dopo il trattamento preanalitico.

■ Stabilità dei campioni

Stabilità del sangue intero:	8 ore a 15-25°C
	7 giorni a 2-8°C ^B
	30 giorni a (-25)-(-15)°C
Stabilità dell'emolizzato:	8 ore a 15-25°C
	24 ore a 2-8°C

Le richieste di stabilità sono state stabilite dal produttore e/o sono basate su riferimenti: ogni laboratorio deve stabilire i propri criteri di stabilità del campione.

Materiali necessari, ma non forniti

1. Analizzatori chimici Mindray BS-600M o altri analizzatori che dispongono della funzione di misurazione dell'HbA1c in campioni di sangue intero senza centrifuga e attrezzature generiche di laboratorio.

Procedura del test

Twin test (prova in abbinamento): La concentrazione di Hb e di HbA1c è stata testata utilizzando il reagente R1/R2.

1. Emoglobina

Parametri	Analizzatori chimici BS-600M
Tipo di test	Endpoint
Lunghezza d'onda (Principale/Secondaria)	505/800 nm
Direzione della reazione	Incremento
R1	90 µL
Incubare a 37°C per 1 minuto, leggere il valore dell'assorbanza A1, quindi aggiungere:	
Campione o Calibratore	8 µL
Miscelare accuratamente, incubare a 37°C per 5 minuti, leggere il valore di assorbanza A2.	
Quindi, calcolare $\Delta A_{\text{Calibratore-Hb}} = \text{Calibratore (A2-A1)}$, $\Delta A_{\text{Campione Hb}} = \text{Campione (A2-A1)}$	

2. HbA1c

Parametri	Analizzatori chimici BS-600M
Tipo di test	Endpoint
Lunghezza d'onda (Principale/Secondaria)	660/800 nm
Direzione della reazione	Incremento
R1	90 µL
Campione o Calibratore	8 µL
Miscelare, incubare a 37°C per 5 minuti, leggere il valore dell'assorbanza A1, quindi aggiungere:	
R2	30 µL
Miscelare accuratamente, incubare a 37°C per 5 minuti, leggere il valore di assorbanza A2.	
Quindi, calcolare $\Delta A_{\text{Calibratore HbA1c}} = \text{Calibratore (A2-A1)}$, $\Delta A_{\text{Campione HbA1c}} = \text{Campione (A2-A1)}$	

3. HbA1c%

La forma più utilizzata nei rapporti di prova è la percentuale di HbA1c. Riportare i risultati dell'emoglobina A1c in mmol/mol (IFCC) o in percentuale (NGSP):

Protocollo 1 secondo IFCC: $\text{HbA1c (mmol/mol)} = \text{HbA1c/Hb} \times 1000$

Protocollo 2 secondo NGSP/DCCT: $\text{HbA1c(\%)} = 91,5 \times \text{HbA1c / Hb} + 2,15$

I parametri possono variare in diversi analizzatori chimici; se necessario è possibile regolare le proporzioni. Per gli analizzatori chimici Mindray serie BS, i parametri dei reagenti sono disponibili su richiesta. Per gli analizzatori, fare riferimento all'apposito manuale d'uso.

"Calibrazione" e "Controllo qualità" si riferiscono alla sezione "HbA1c dosato con l'utilizzo di campioni di sangue intero con centrifugazione".

Calcolo

Campione C = (campione ΔA /Calibratore ΔA) \times calibratore C.

L'analizzatore chimico serie BS rileva la variazione di assorbanza (ΔA) e calcola automaticamente la concentrazione di Hb/HbA1c di ogni campione dopo la calibrazione.

Il sistema restituisce i valori dell'HbA1c e dell'Hb in $\mu\text{mol/L}$ (unità S.I.). Per convertire i risultati in g/dL (unità comuni), utilizzare la seguente equazione:
Fattore di conversione: $\mu\text{mol/l} \times 0,1354 = \text{g/dL}$.

Diluizione

Se il valore del campione supera i $300 \mu\text{mol/L(Hb)}$ o i $39 \mu\text{mol/L(HbA1c)}$, diluire il campione con la Soluzione di pretrattamento (ad esempio, 1+1) e sottoporlo a nuovo test, quindi moltiplicare il risultato di Hb e HbA1c per 2. Per il risultato in mmol/mol per l'HbA1c (IFCC) e in % per l'HbA1c (DCCT/NGSP) non è necessario utilizzare alcun fattore di conversione.

Valori attesi⁹

	Tipo di campione	Unità S.I.
Sangue intero	Secondo IFCC	20,20-42,06 mmol/mol
	Secondo NGSP/DCCT	4,0%-6,0%

Il valore previsto viene fornito dal riferimento e Mindray lo ha verificato in 60 campioni di soggetti provenienti dalla Cina meridionale.

Ogni laboratorio deve stabilire gli intervalli di riferimento in base alle caratteristiche specifiche della popolazione e del luogo in quanto i valori attesi possono variare in base all'area geografica, alla razza, al sesso e all'età.

Caratteristiche delle prestazioni**■ Sensibilità analitica**

Il Limite del bianco (LoB) e Limite di rilevamento (LoD) sono stati determinati sull'analizzatore BS-600M in conformità con la Linea guida approvata CLSI EP17-A2.

Hb:	HbA1c:	HbA1c% (NGSP/DCCT):
LoB=4,55 µmol/L	LoB=1,12 µmol/L	LoB=2,97%
LoD=4,94 µmol/L	LoD=1,17 µmol/L	LoD=3,01%

Il LoB corrisponde al valore del 95° percentile ottenuto in $n \geq 60$ misurazioni di uno o più campioni privi di analita in varie serie indipendenti l'una dall'altra. Il LoB corrisponde alla concentrazione al di sotto della quale si riscontrano campioni privi di analita con una probabilità del 95%.

Il LoD viene determinato in base al LoB e alla deviazione standard (SD) dei campioni a basse concentrazioni. Il LoD corrisponde alla concentrazione minima dell'analita che può essere rilevata (valore superiore al LoB con una probabilità del 95%).

■ Intervallo di misurazione

Il sistema della serie BS di Mindray garantisce il seguente intervallo di linearità:

Tipo di campione	Unità S.I.	
	HbA1c%	3%-16% (NGSP/DCCT)
Sangue intero	HbA1c	2-39 µmol/L
	Emoglobina	60-300 µmol/L

HbA1c%: un campione ad alta percentuale di concentrazione HbA1c (circa 16%) viene miscelato con un campione a bassa concentrazione (<3%) a diversi rapporti, generando una serie di diluizioni. La percentuale di concentrazione HbA1c di ciascuna diluizione viene determinata utilizzando l'analizzatore Mindray; l'intervallo di linearità viene dimostrato con il coefficiente di correlazione $r \geq 0,9900$.

HbA1c (concentrazione Hb ≥ 100 µmol/L): un campione ad alta percentuale di concentrazione HbA1c (circa 39 µmol/L) viene miscelato con un campione a bassa concentrazione (<2 µmol/L) a diversi rapporti, generando una serie di diluizioni. La concentrazione di HbA1c di ciascuna diluizione viene determinata utilizzando l'analizzatore Mindray; l'intervallo di linearità viene dimostrato con il coefficiente di correlazione $r \geq 0,9900$.

Hb: un campione ad alta concentrazione Hb (circa 300 $\mu\text{mol/L}$) viene miscelato con un campione a bassa concentrazione ($<60 \mu\text{mol/L}$) a diversi rapporti, generando una serie di diluizioni. La concentrazione Hb di ciascuna diluizione viene determinata utilizzando l'analizzatore Mindray; l'intervallo di linearità viene dimostrato con il coefficiente di correlazione $r \geq 0,9900$.

■ Precisione

La precisione è stata determinata in base alla Linea guida approvata CLSI EP05-A3¹⁰, ogni campione è stato testato 2 volte per ciclo, 2 cicli al giorno, per un totale di 20 giorni. I dati relativi alla precisione (calcolati in base al sistema NGSP/DCCT) di controlli e campioni umani sull'analizzatore BS-600M sono riepilogati di seguito*.

Tipo di campione (N=80)	Media (%)	Nell'ambito del ciclo		All'interno del laboratorio	
		SD (%)	CV%	SD (%)	CV%
Controllo N	5,16	0,02	0,35	0,02	0,44
Controllo P	10,28	0,02	0,18	0,03	0,29
Sangue intero 1	5,47	0,02	0,32	0,03	0,54
Sangue intero 2	6,63	0,02	0,33	0,03	0,45
Sangue intero 3	9,32	0,02	0,22	0,04	0,46
Sangue intero 4	11,38	0,03	0,27	0,05	0,41

*I dati rappresentativi e i risultati nei diversi strumenti e laboratori possono variare.

■ Specificità analitica

1. Sostanze endogene e farmaci

I campioni con sostanza interferente a diversa concentrazione sono stati preparati con l'aggiunta dell'interferente a pool di campioni umani e i recuperi sono stati entro $\pm 5,0\%$ del corrispondente valore di controllo, in modo tale da poter essere considerati privi di interferenza significativa.

Non sono state osservate interferenze significative testando con questa procedura per la verifica delle interferenze le sostanze sotto elencate. I dati (calcolati in base al sistema NGSP/DCCT) degli studi di interferenza sull'analizzatore BS-600M sono riepilogati di seguito*.

Sostanza interferente	Concentrazione della sostanza interferente	Concentrazione Intervallo di	Deviazione relativa
Acido ascorbico	3 mg/dL	6,64%	+0,41%
Bilirubina coniugata	15 mg/dL	6,63%	-2,06%
Bilirubina non coniugata	10 mg/dL	6,66%	-2,19%
Trigliceridi	2000 mg/dL	6,67%	-0,10%
Melbine	5,1 mg/dL	6,61%	-0,40%
Ibuprofene	50mg/dL	6,59%	+0,15%
Acarbosio	50mg/dL	6,58%	-0,08%
Panadol	200 µg/mL	6,59%	-3,07%
Aspirina	50 mg/dL	6,56%	0,00%

**I dati rappresentativi e i risultati nei diversi strumenti e laboratori possono variare.*

2. Derivati dell'Emoglobina

I campioni con un diverso tipo di derivati dell'emoglobina sono stati preparati con l'aggiunta dell'interferente a pool di campioni umani e i recuperi sono risultati entro $\pm 5,0\%$ del valore di controllo corrispondente, valori che possono essere considerati privi di interferenze significative.

Quando sono state aggiunte le seguenti sostanze con questa procedura, non sono state osservate interferenze significative. I dati (calcolati in base al sistema NGSP/DCCT) degli studi di interferenza sull'analizzatore BS-600M sono riepilogati di seguito*.

Tipo di Derivati dell'Emoglobina	Concentrazione Intervallo di	Deviazione relativa
Emoglobina acetilata, generata aggiungendo ≥ 50 mg/dL di aspirina	6,50%	+0,71%
Emoglobina carbamidata, generata aggiungendo ≥ 10 mmol/L di cianato	6,61%	-1,43%
Emoglobina labile, generata aggiungendo ≥ 1000 mg/dL di glucosio	6,61%	-1,13%

**I dati rappresentativi e i risultati nei diversi strumenti e laboratori possono variare.*


3. Varianti dell'Emoglobina

È stata valutata la specificità confrontando i valori dell'Emoglobina A1c a valori di riferimento per campioni contenenti emoglobine anomale e i recuperi sono risultati compresi entro $\pm 5,0\%$ del valore di controllo corrispondente, valori che possono essere considerati privi di interferenze significative.

Avvertenze e precauzioni

1. Solo per uso diagnostico in vitro. Per uso professionale in ambiente di laboratorio.
2. Il test ha unicamente lo scopo di misurare, in modo accurato e preciso, le percentuali di HbA1c. I singoli risultati per le concentrazioni totali di emoglobina e HbA1c non devono essere riportati.
3. Adottare le precauzioni necessarie per la manipolazione di tutti i reagenti di laboratorio.
4. Prima dell'uso, verificare l'integrità della confezione. Non utilizzare i kit se le confezioni sono danneggiate. Evitare l'esposizione diretta dei reagenti alla luce solare e al congelamento. I risultati non possono essere garantiti se le condizioni di conservazione non sono appropriate.
5. Se i reagenti vengono aperti involontariamente prima dell'uso, conservarli ermeticamente chiusi a 2-8°C e al riparo dalla luce in modo che mantengano una stabilità equivalente a quella necessaria per l'uso.
6. Non miscelare i reagenti con lotti differenti.
Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza e dopo i tempi di utilizzo previsti.
Non mescolare i reagenti nuovi con reagenti già in uso.
Evitare la formazione di schiuma.
7. Si può sospettare una condizione di instabilità o deterioramento in presenza di segni visibili di perdita, accumulo di precipitati o flora microbica oppure se i controlli o la calibrazione non rispettano i criteri del sistema Mindray e/o del foglio illustrativo.
8. Il mancato rispetto delle istruzioni fornite nel presente foglio illustrativo invalida la garanzia di affidabilità dei risultati dei test.
9. Contiene conservanti. Non ingerire. Evitare il contatto con pelle e mucose.
10. In caso di contatto accidentale dei reagenti con gli occhi, con la bocca o con la pelle, lavare immediatamente con abbondante acqua. Se necessario, consultare il medico per richiedere ulteriori trattamenti.
11. Per gli utenti professionali è disponibile, su richiesta, la scheda di sicurezza.
12. Lo smaltimento di tutto il materiale di scarto deve essere conforme alle normative locali.
13. Tutti i materiali umani devono essere considerati potenzialmente infettivi.
14. Tutti i rischi identificati sono stati limitati nella misura del possibile, senza influire negativamente sul rapporto rischio-beneficio, e il rischio residuo complessivo è accettabile.

15. Segnalare gli eventuali incidenti gravi che si verificano in relazione all'utilizzo del dispositivo al produttore e all'autorità competente dello Stato membro nel quale si trova l'utente e/o il paziente.
16. Il kit contiene componenti classificati come segue secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008:

	
Pericolo	
H317	Può causare una reazione allergica cutanea.
H360D	Può nuocere al feto.
H412	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
Prevenzione:	
P201	Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P280	Indossare guanti e abbigliamento protettivi.
P261	Evitare di respirare nebbia/vapori/spray.
P273	Evitare il rilascio nell'ambiente.
P272	Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere lasciati fuori dal luogo di lavoro.
Risposta:	
P308+P313	In caso di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico.
P302+P352	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare con abbondante acqua.
P333+P313	Se insorgono irritazioni della pelle o eruzioni cutanee: consultare un medico.
P362+P364	Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli.
Smaltimento:	
P501	Smaltire il contenuto e il contenitore in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, in conformità con i regolamenti locali.

Bibliografia

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Elsevier Saunders 2012;1441-1447.
2. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA et al. Tests of glycemia in diabetes. Diabetes Care, 1995;18:896-909.
3. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. Diabetes Care, 1994;17:938-939.
4. 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.
5. Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. Diabetes, 1993;42:1549-1554.
6. 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.
7. Nathan DM, Kuenen J, Borg R et al. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. Diabetes Care, 2008; 31:1473-1478.
8. Wu, Alan HB. Tietz clinical guide to laboratory tests. 4th ed. Elsevier Health Sciences, 2006; 480.
9. Hanas R, John G, International HbA1c Consensus Committee. 2010 Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. ClinChem Lab Med, 2010;48:775-776.
10. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
11. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Sample; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
12. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. Washington, DC: AACC Press; 2000:3-433,3-434.

Simboli grafici



In Vitro Diagnostic
medical device



Unique device
identifier



European
Conformity



Consult Instructions
For use



Use-by
date



Authorized representative in
the European Community



Batch Code



Temperature
limit



Manufacturer



Catalogue
number



Keep away from sunlight

Indicates a medical device that needs protection from light sources

© 2022-2023 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Tutti i diritti riservati

Produttore: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Indirizzo: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-Tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057, Repubblica popolare cinese

Indirizzo e-mail: service@mindray.com

Sito web: www.mindray.com

Tel.: +86-755-81888998; **Fax:** +86-755-26582680

Rappresentante CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Indirizzo: Eiffestraße 80, Amburgo 20537, Germania

Tel.: 0049-40-2513175; **Fax:** 0049-40-255726

HbA1c

mindray

Hemoglobin A1c Kiti (Enzimatik Tayin Yöntemi)



Sipariş Bilgileri

Cat. No.	Ambalaj boyutu
105-002165-00	R(Hb): 1×30 mL + R1(HbA1c): 1×30 mL + R2(HbA1c): 1×12 mL + R0: 1×150 mL
105-002166-00	R(Hb): 1×40 mL + R1(HbA1c): 1×40 mL + R2(HbA1c): 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-002167-00	R(Hb): 2×40 mL + R1(HbA1c): 2×40 mL + R2(HbA1c): 2×15 mL + R0: 2×150 mL
105-009338-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 3×40 mL
105-005737-00	R1: 1×40 mL + R2: 1×15 mL + R0: 1×200 mL
105-005738-00	R1: 2×40 mL + R2: 2×15 mL + R0: 3×58 mL

Kullanım Amacı

Mindray BS serisi kimya analizörleri tam kan hemoglobin A1c (HbA1c) konsantrasyonunun insanlarda kantitatif saptaması için in vitro test. Diyabetin terapötik etkisinin tanısı ve izlenmesi amacıyla kullanılır.

Özet¹⁻⁷

Hemoglobin (Hb), dört hem grubu bulunan dört protein zincirinden oluşur ve eritrositlerde bulunan kırmızı pigmentli proteindir. Hemoglobinin ana işlevi kanda oksijen ve karbondioksit taşımaktır. Her Hb molekülü dört oksijen molekülüne bağlanabilir. Hb bir dizi subfraksiyon ve türevlerden oluşur. Bu heterojen grubu, çeşitli şekerlerin Hb molekülüne bağlanmasıyla oluşan gliko hemoglobinler subfraksiyonuna dahildir. HbA1c, glukozun normal yetişkin Hb (HbA) β zincirindeki N terminal amino grubuyla nonenzimatik reaksiyonu sonucu iki adımda oluşturulur. İlk adım geri dönüştürülebilirdir ve kararsız HbA1c oluşturur. Kararsız oluşum reaksiyonunun ikinci adımında yavaşça yeniden düzenlenerek kararlı HbA1c'yi oluşturur. Eritrositlerde kararlı HbA1c'ye dönüştürülen HbA'nın miktarı kandaki ortalama glukoz konsantrasyonuna bağlı olarak artar. Kararlı HbA1c'ye dönüşüm, eritrositin yaklaşık 100 ila 120 günlük yaşam süresiyle kısıtlıdır. Bunun sonucunda HbA1c son 2 ila 3 aydaki ortalama kan glukoz düzeyini yansıtır. Bu nedenle HbA1c, diabetes mellitus görülen bireylerde uzun süreli kan glukozu kontrolünü izlemek için uygundur. Daha yakın zaman içindeki glukoz düzeylerinin HbA1c düzeyi üzerindeki etkisi daha fazladır. Son 2-3 ay içindeki HbA1c ve ortalama kan glukozu değeri arasındaki ilişki pek çok çalışmada analiz edilmiştir.

Tayin İlkesi

HbA1c

mindray

Enzimatik Tayin Yöntemi



İlk reaksiyonda, hemogloblin konsantrasyonu sabit dalga boyundaki absorbansla ölçülür ve aynı zamanda HbA1c'nin beta zincirindeki N-terminus amino gruplarından proteinaz reaksiyonuyla fruktozil dipeptitler üretilir. İkinci reaksiyonda (Fruktosil peptit oksidazın (FPOX) fruktoz dipeptitlerine reaksiyonu), üretilen hidroperoksit sayesinde 10-(karboksimetilaminokarbonil)-3,7-bis (dimetil- amino) fenotiazin sodyum tuzu (DA67), peroksidaz varlığında bir renk oluşturur. HbA1c tayini için absorbanstaki değişiklik ölçülür. Hemogloblin ve HbA1c'nin birleştirilmiş tayin sonuçları sistem tarafından %HbA1c hesaplaması ve ifadesi için kullanılır.

Reaktif Bileşenler

	N,N-Dimethylformamit	<10,0 g/L
	Kalsiyum klorür	<2,0 g/L
R(Hb)/R1(HbA1c)/R1:	Proteinaz	> 500 KU/L
	DA67	0,1 mmol/L
	ProClin 300	%0,05
	Sodyum azid	<%0,01
R2(HbA1c)/R2:	Peroksidaz	> 1500 U/L
	Fruktosil peptit oksidaz	> 1500 U/L
R0(Ön İşlem Çözeltisi)	NaNO ₂	1,0 g/L
	ProClin 300	%0,05

Saklama ve kullanım süresi

Doğrudan güneş ışığına maruz kalmayacak şekilde 2 ile 8 °C arasında saklandığında, etiket üzerindeki son kullanma tarihi geçerlidir.

Reaktifler kullanım süresi analizörde soğutulmak kaydıyla 28 gün stabildir.

Kontaminasyon önlenmelidir.

Reaktifi dondurmayın.

Bu kısımlar, Santrifüjlemeyle tam kan numuneleri kullanılarak tayin edilmiş HbA1c içindir.

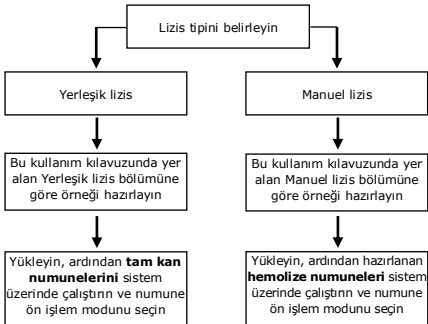
Numune alma ve hazırlama

■ Numune türleri

K₂-EDTA, K₃-EDTA, NaF-EDTA, lityum heparin and sodyum heparin tam kan numuneler için uygundur.

■ Analize Hazırlık

- 1.Uygun tüp veya toplama kapları kullanın ve üretici talimatlarına uyun; tüp ve diğer toplama kaplarının materyal etkisinden kaçınin.
- 2.Testten önce tam kan numuneleri 2000 rpm hıza 5 dakika santrifüje tabi tutulmalıdır.
- 3.Aşağıdaki akış şemasına bakın:



■ Yerleşik lizis

- 1.“BS-serisi Sistem Operasyonları El Kılavuzu” -> “Genel Çalışma Prosedürü” ->“Tam Kan Testi” bölümüne bakın.
- 2.Santrifüjlenmiş kan korpüskül örneğinin ve Ön İşlem Çözeltilisinin oranı 10ul:200ul şeklindedir.

- 3.Uyarı: Antikoagülasyon tüpleri için, tüpteki toplam numune yüksekliği 55 mm'den yüksek olmamalı ve santrifüjlenmiş kan korpüskülü yüksekliği 10 mm'den düşük olmamalıdır. Sonuç tatmin edici değilse, toplam numunenin ve santrifüjlenmiş kan hücrelerinin yüksekliğini ayarlayın veya manuel lize geçin.
- 4.Uyarı: Mükro numune kapları ve Eppendorf mikrofüj tüpü kullanılamaz.

■ Manuel lizis

- 1.Santrifüjlenmiş oluşumdan 25 uL kan korpüskülünü bir numune kabına veya Eppen-dorf mikrofüj tüpüne alın. Kan korpüskülü, numune probu ve pipetten kolayca emilir, bu da hedef hacmin aşılmasına neden olabilir.
- 2.Test tüpüne 500 µL Ön İşlem Çözeltisi ekleyin.
- 3.Test tüpünü kapatın ve vorteks kanıştıncıda 10 kez çevirerek veya 10 saniye çalkalayarak kanı lizis işlemine tabi tutun.
- 4.Hemolizat 4 dakikanın ardından çalışma numunesi olarak kullanılabilir.
- 5.Gerekirse, kan korpüskülünün ve Ön Tedavi Solüsyonunun hacmi eşit oranda çoğaltılabilir.
- 6.Numuneler, analiz öncesi tedavinin ardından mümkün olan en kısa sürede test edilmelidir.

■ Numune Stabilitesi

Tam kan Stabilitesi: 15-25 °C'de 8 saat
2-8 °C'da⁸ 7 gün
(-25)-(-15)°C'de 30 gün

Hemolizat Stabilitesi: 15-25 °C'de 8 saat
2-8 °C'de 24 saat

Tam kan numunelerini dondurmayın. Numune stabilitesi iddiaları, üretici tarafından ve/veya referanslara dayandırılarak oluşturulmuş olup, her laboratuvar kendi numune stabilitesi kriterlerini oluşturmalıdır.

Reaktif Hazırlama

R(Hb)/R1(HbA1c)/R1, R2(HbA1c)/R2 ve Ön İşlem Çözeltisi kullanıma hazırdır.

Ölçüm sisteminin performansını garanti etmek için kalibrasyon ve analiz dahil olmak üzere planlanmış bakım ve standart işlemleri gerçekleştirin.

Gerekli ancak temin edilmeyen malzemeler

- 1.Standart laboratuvar malzemeleri: distile/deiyonize su.
- 2.Kalibratör ve Kontrol: Lütfen Kalibrasyon ve Kalite Kontrol reaktif talimatları bölümünü inceleyin.
- 3.Mindray BS serisi kimya analizörleri ve Standart laboratuvar ekipmanı.

Tayin Prosedürü

■ İkiz dışı test

Hb, reaktif R(Hb) kullanılarak test edildi ve HbA1c ise reaktif R1 (HbA1c)/R2(HbA1c) kullanılarak test edilmiştir.

■ İkiz test

Hb ve HbA1c, reaktif R1/R2 kullanılarak eş zamanlı test edilmiştir.

1.Hb

Parametre Ögesi	BS-800 kimya analizörleri
Tayin türü	Sonlanım noktası
Dalga boyu (Primer/Sekonder)	505/800 nm
Tepkime yönü	Artış
R (Hb)/R1(HbA1c)	180 µL
37 °C'de 1 dakika enkübe edin, A1 absorbansını okuyun, ardından şunu ekleyin:	
Numune veya Kalibratör	12 µL
İyice karıştırın, 37 °C'de 5 dk enkübe edin, A2 absorbansını okuyun, Daha sonra, $\Delta A_{Hb-kalibratör}=(A2-A1)$ kalibratörünü, $\Delta A_{Hb-numune}=(A2-A1)$ numune hesaplayın	

2.HbA1c

Parametre Ögesi	BS-800 kimya analizörleri
Tayin türü	Sonlanım noktası
Dalga boyu (Primer/Sekonder)	660/800 nm
Tepkime yönü	Artış
R1 (HbA1c)/R1	180 µL
Numune veya Kalibratör	12 µL
37 °C'de 5 dakika enkübe edin, A1 absorbansını okuyun, ardından şunu ekleyin:	
R2(HbA1c)/R2	60 µL
İyice karıştırın, 37 °C'de 5 dk enkübe edin, A2 absorbansını okuyun, Daha sonra, $\Delta A_{HbA1c-kalibratör}=(A2-A1)$ kalibratörünü, $\Delta A_{HbA1c-numune}=(A2-A1)$ numune hesaplayın	

3.%HbA1c

%HbA1c, en sık bildirilen formdur. Hemogloblin A1c sonuçlarını mmol/mol (IFCC) veya yüzde (NGSP) olarak bildirin:

IFCC'ye göre Protokol 1: $HbA1c (mmol/mol) = HbA1c/Hb \times 1000$

NGSP/DCCT'ye göre Protokol 2: $HbA1c(\%) = 91,5 \times HbA1c/Hb + 2,15$

HbA1c

Parametreler farklı kimya analizörlerinde değişiklik gösterebilir ve gerektiğinde orantısal olarak ayarlanabilir. Mindray BS serisi kimya analizörleri için Reaktif Parametreleri istek üzerine mevcuttur. Analizöre özel tayin talimatları için lütfen uygun çalışma kılavuzuna başvurun.

Kalibrasyon

1. İki nokta kalibrasyonu için Mindray Kalibratörünün (HbA1c Kalibratörü: 105-003680-00 veya başka uygun kalibratörlerin) kullanılması önerilir. HbA1c Kalibratörünün izlenebilirliği için Mindray firmasının kalibratör kullanım talimatlarına bakabilirsiniz.

2. Kalibrasyon sıklığı

Kalibrasyon, BS-800 kimya analizörlerinde yaklaşık 28 gün boyunca stabildir. Kalibrasyon stabilitesi farklı aletlerde farklılık gösterebildiğinden, her laboratuvar enstrüman parametrelerinde kendi kullanım modeline uygun bir kalibrasyon frekansı ayarlamalıdır.

Aşağıdaki durumlarda yeniden kalibrasyon gerekebilir:

- Reaktif lot değiştiğinde.
- Kalite kontrol prosedürlerinin ardından veya kontrol dışı olduğunda gerekmesi halinde.
- Kimya analizörlerinde belirli bir bakım ya da sorun giderme prosedürünün yürütülmesinden sonra.

3. Kalibratör değerleri, değerler sayfasında listelenen eşleşen modellerle lota özgüdür.

Kalite kontrol

1. Ölçüm prosedürünün performansını doğrulamak için Mindray Kontrolü (HbA1c Kontrolü 105-002140-00, 105-002138-00 veya diğer uygun kontrollerin) kullanılmasını öneririz; ek olarak diğer uygun kontrol maddeleri de kullanılabilir.

2. Her bir numune partisinin analizi için iki seviye kontrol maddesi önerilir. Ayrıca, bu kontrol, her yeni kalibrasyonda ve her yeni reaktif tüple işlenmeli ve uygun sistem kitapçığında detaylandırılan özel bakım veya onarım prosedüründen geçmelidir.

3. Her laboratuvar kendi dahili kalite kontrol programını ve kontrolün kabul edilebilir tolerans dahilinde olmaması durumunda uygulanacak düzeltici önlem prosedürlerini belirlemelidir.

Hesaplama

C örneği = $(\Delta A \text{ numune} / \Delta A \text{ kalibratör}) \times C \text{ kalibratör}$.

BS serisi kimya analizörü, absorbans değişimini (ΔA) algılar ve kalibrasyondan sonra her numunenin Hb/HbA1c konsantrasyonunu otomatik olarak hesaplar.

Sistem, HbA1c ve Hb sonuçlarını $\mu\text{mol/L}$ (SI birimleri) cinsinden hesaplar. Sonuçları g/dL 'ye (genel birimler) dönüştürmek için aşağıdaki denklemden

HbA1c

mindray

faydalanın:

Dönüştürme faktörü: $\mu\text{mol/L} \times 0,1354 = \text{g/dL}$.

Beklenen değerler⁹

Numune Tipi	S.I. Birimleri
Tam kan	20,20-42,06 mmol/mol
IFCC'ye göre	
NGSP/DCCT'ye göre	%4,0-%6,0

Beklenen değer referanstan sağlanmıştır ve Mindray, bunu Güney Çin'e ait 60 insan numunesiyle doğrulamıştır.

Beklenen değerler coğrafya, ırk, cinsiyet ve yaş gibi özelliklere göre değiştiğinden, her laboratuvar mevcut coğrafya ve popülasyon özelliklerine dayanarak kendi referans aralığını oluşturmalıdır.

Performans Özellikleri

■ Analitik Hassasiyet

Hemoglobin A1c Kiti, BS-400'de Hb için 60 $\mu\text{mol/L}$, HbA1c için 2 $\mu\text{mol/L}$ analitik hassasiyete sahiptir. Analitik hassasiyet, analit içermeyen bir numuneden ayırt edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bu, analit içermeyen bir numunenin 20 kez tekrarlanmasından elde edilen ortalamanın 3 standart sapma üzerinde bulunan değer olarak hesaplanır.

■ Ölçüm aralığı

Mindray BS serisi sistemleri aşağıdaki lineer aralığı sağlamaktadır:

Numune Tipi	S.I. Birimleri
Tam kan	%3-%16 (NGSP/DCCT)

Yüksek konsantrasyonda HbA1c içeren bir numune (yaklaşık %16), farklı oranlarda düşük konsantrasyonlu bir numuneyle (<%3) karıştırılarak bir dizi seyrelti üretilir. Her seyreltinin HbA1c konsantrasyonu Mindray Sistemi ile belirlenir; doğrusallık aralığı $r \geq 0,9900$ korelasyon katsayısıyla gösterilir. Oran seyreltme yoluyla çözülemediğinden bildirilmesi gereken aralık %3-16'dır (NGSP/DCCT).

■ Duyarlılık

Duyarlılık, CLSI Onaylı Kılavuz EP05-A3¹⁰'e göre belirlendi; her numune toplamda 20 gün süresince günde 2 olmak üzere çalışma başına 2 kez tayin edildi. BS-400 ile ilgili kontrollerin duyarlılık verileri (NGSP/DCCT'ye göre hesaplanmıştır) aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir*.

Numune Türü (N=80)	Ortalama (%)	Çalışma İçi		Laboratuvar Bünyesinde	
		SD (%)	CV %	SD (%)	CV %
Kontrol N	4,43	0,14	3,19	0,17	3,79

3. Tam kan örneğinin ve Ön İşlem Çözeltisinin oranı 10ul:200ul şeklindedir.
4. Uyarı: Antikoagülasyon tüpleri için tüpteki toplam numune yüksekliği 10-55 mm aralığında olmalıdır. Bu aralığın dışındaysa, numune yüksekliğini ayarlayın veya manuel lizise geçin.
5. Uyarı: Mükro numune kapları ve Eppendorf mikrofüj tüpü kullanılamaz.

■ Manuel lizis

1. Tüm numuneleri düşük hızda vorteksleyerek veya 10 kez hafifçe ters çevirerek iyice karıştırın.
2. 10 uL tam kanı bir numune kabına veya Eppendorf mikrofüj tüpüne alın. Tam kan, numune probu ve pipetten kolayca emilir, bu da hedef hacmin aşılmasına neden olabilir.
3. Test tüpüne 200 µL Ön İşlem Çözeltisi ekleyin.
4. Test tüpünü kapatın ve vorteks karıştırıcıda 10 kez çevirerek veya 10 saniye çalkalayarak kanı lizis işlemine tabi tutun.
5. Hemolizat 4 dakikanın ardından çalışma numunesi olarak kullanılabilir.
6. Tam kanın ve Ön Tedavi Solüsyonunun gerektiğinde hacmi eşit oranda çoğaltılabilir.
7. Numuneler, analiz öncesi tedavinin ardından mümkün olan en kısa sürede test edilmelidir.

■ Numune Stabilitesi

- Tam kan Stabilitesi: 15-25 °C'de 8 saat
2-8 °C'da⁸ 7 gün
(-25)-(-15)°C'de 30 gün
- Hemolizat Stabilitesi: 15-25 °C'de 8 saat
2-8 °C'de 24 saat

Numune stabilitesi iddiaları, üretici tarafından ve/veya referanslara dayandırılarak oluşturulmuş olup, her laboratuvar kendi numune stabilitesi kriterlerini oluşturmalıdır.

Gerekli ancak temin edilmeyen malzemeler

1. Mindray kimya analizörleri BS-600M veya HbA1c işlevine sahip diğer analizörler, Santrifüj ve Standart laboratuvar ekipmanı olmadan tam kan numuneleri kullanılarak tayin edilmiştir.

Tayin Prosedürü

İkiz test: Hb ve HbA1c konsantrasyonu, reaktif R1/R2 kullanılarak test edilmiştir.

1.Hb

Parametre Ögesi	BS-600 kimya analizörleri
Tayin türü	Sonlanım noktası
Dalga boyu (Primer/Sekonder)	505/800 nm
Tepkime yönü	Artış
R1	90 µL
37 °C'de 1 dakika enkübe edin, A1 absorbansını okuyun, ardından şunu ekleyin:	
Numune veya Kalibratör	8 µL
İyice karıştırın, 37 °C'de 5 dk enkübe edin, A2 absorbansını okuyun, Daha sonra, $\Delta A_{\text{Hb-kalibratör}}=(A2-A1)$ kalibratörünü, $\Delta A_{\text{Hb-numune}}=(A2-A1)$ numune hesaplayın	

2.HbA1c

Parametre Ögesi	BS-600 kimya analizörleri
Tayin türü	Sonlanım noktası
Dalga boyu (Primer/Sekonder)	660/800 nm
Tepkime yönü	Artış
R1	90 µL
Numune veya Kalibratör	8 µL
37 °C'de 5 dakika enkübe edin, A1 absorbansını okuyun, ardından şunu ekleyin:	
R2	30 µL
İyice karıştırın, 37 °C'de 5 dk enkübe edin, A2 absorbansını okuyun, Daha sonra, $\Delta A_{\text{HbA1c-kalibratör}}=(A2-A1)$ kalibratörünü, $\Delta A_{\text{HbA1c-numune}}=(A2-A1)$ numune hesaplayın	

3.%HbA1c

%HbA1c, en sık bildirilen formdur. Hemoglobin A1c sonuçlarını mmol/mol (IFCC) veya yüzde (NGSP) olarak bildirin:

IFCC'ye göre Protokol 1: $\text{HbA1c (mmol/mol)} = \text{HbA1c/Hb} \times 1000$

NGSP/DCCT'ye göre Protokol 2: $\text{HbA1c(\%)} = 91,5 \times \text{HbA1c/Hb} + 2,15$

Parametreler farklı kimya analizörlerinde değişiklik gösterebilir ve gerektiğinde orantısal olarak ayarlanabilir. Mindray BS serisi kimya analizörleri için Reaktif Parametreleri istek üzerine mevcuttur. Analizörlere özel test talimatları için lütfen uygun çalışma kılavuzuna başvurun.

"Kalibrasyon" ve "Kalite kontrolü", "Sentrifüjlemeyle tam kan numuneleri kullanılarak tayin edilmiş HbA1c" bölümüne atıfta bulunur.

Hesaplama

C örneği= (ΔA numune/ ΔA kalibratör) \times C kalibratör.

BS serisi kimya analizörü, absorbans değişimini (ΔA) algılar ve kalibrasyondan sonra her numunenin Hb/HbA1c konsantrasyonunu otomatik olarak hesaplar.

Sistem, HbA1c ve Hb sonuçlarını $\mu\text{mol/L}$ (SI birimleri) cinsinden hesaplar. Sonuçları g/dL'ye (genel birimler) dönüştürmek için aşağıdaki denklemden faydalanın:

Dönüştürme faktörü: $\mu\text{mol/L} \times 0,1354 = \text{g/dL}$.

Seyreltme

Numunenin değeri $300 \mu\text{mol/L(Hb)}$ 'yi veya $39 \mu\text{mol/L(HbA1c)}$ 'yi aşıyorsa, numune Ön Çözeltisiyle seyreltilip (örn. 1+1) yeniden çalıştırılmalı, HB ile HbA1c sonucu 2 ile çarpılmalıdır. Mmol/mol HbA1c (IFCC) ve %HbA1c (DCCT/NGSP) sonucu için dönüştürme faktörü gerekli değildir.

Beklenen değerler⁹

	Numune Tipi	S.I. Birimleri
Tam kan	IFCC'ye göre	20,20-42,06 mmol/mol
	NGSP/DCCT'ye göre	%4,0-%6,0

Beklenen değer referanstan sağlanmıştır ve Mindray, bunu Güney Çin'e ait 60 insan numunesiyle doğrulamıştır.

Beklenen değerler coğrafya, ırk, cinsiyet ve yaş gibi özelliklere göre değiştiğinden, her laboratuvar mevcut coğrafya ve popülasyon özelliklerine dayanarak kendi referans aralığını oluşturmalıdır.

Performans Özellikleri

■ Analitik Hassasiyet

Kör Sınır (LoB) ve Algılama Sınır (LoD), BS-600M için CLSI Onaylı Kılavuz EP17-A2'ye göre belirlenmiştir.

Hb:	HbA1c:	%HbA1c(NGSP/DCCT):
LoB=4,55 $\mu\text{mol/L}$	LoB=1,12 $\mu\text{mol/L}$	LoB=%2,97
LoD=4,94 $\mu\text{mol/L}$	LoD=1,17 $\mu\text{mol/L}$	LoD=%3,01

Kör Sınır, bir veya birkaç analit içermeyen numunenin, birkaç bağımsız seri üzerinden gerçekleştirilen $n \geq 60$ ölçümlerinden elde edilen 95. yüzdelik değerdir. Kör Sınır, analit içermeyen numunelerin %95 olasılıkla altında bulunduğu konsantrasyona karşılık gelir.

HbA1c

mindray

Algılama Sınırı; K r Sınırı ile düşük konsantrasyonlu numunelerin standart sapması temel alınarak belirlenir. Algılama Sınırı, algılanabilen en düşük analit konsantrasyonuna (%95 olasılıkla K r Sınırnın  zerindeki deęerdir) karřılık gelir.

■ ölüm aralıęı

Mindray BS serisi sistemleri ařaęıdaki lineer aralıęı saęlamaktadır:

Numune Tipi	S.I. Birimleri	
	%HbA1c	%3-%16 (NGSP/DCCT)
Tam kan	HbA1c	2-39 �mol/L
	Hb	60-300 �mol/L

%HbA1c: Yüksek konsantrasyonda HbA1c içeren bir numune (yaklařık %16), farklı oranlarda düşük konsantrasyonlu bir numuneyle (<%3) karıřtırılarak bir dizi seyrelti üretilir. Her seyreltinin %HbA1c konsantrasyonu Mindray Sistemi ile belirlenir; doęrusallık aralıęı $r \geq 0,9900$ korelasyon katsayısıyla gösterilir.

HbA1c (≥ 100  mol/L Hb konsantrasyonu): Yüksek konsantrasyonda HbA1c içeren bir numune (yaklařık 39  mol/L), farklı oranlarda düşük konsantrasyonlu bir numune (<2  mol/L) karıřtırılarak bir dizi seyrelti üretilir. Her seyreltinin HbA1c konsantrasyonu Mindray Sistemi ile belirlenir; doęrusallık aralıęı $r \geq 0,9900$ korelasyon katsayısıyla gösterilir.

Hb: Yüksek konsantrasyonda Hb içeren bir numune (yaklařık 300  mol/L), farklı oranlarda düşük konsantrasyonlu bir numune (<60  mol/L) karıřtırılarak bir dizi seyrelti üretilir. Her seyreltinin Hb konsantrasyonu Mindray Sistemi ile belirlenir; doęrusallık aralıęı $r \geq 0,9900$ korelasyon katsayısıyla gösterilir.

■ Duyarlılık

Duyarlılık, CLSI Onaylı Kılavuz EP05-A3¹⁰'e göre belirlendi; her numune toplamda 20 gün süresince günde 2 olmak üzere çalıřma bařına 2 kez tayin edildi. BS-600M ile ilgili kontrollerin ve insan numunelerinin duyarlılık verileri (NGSP/DCCT'ye göre hesaplanmıřtır) ařaęıdaki tablolarda özetlenmiřtir*.

Numune Türü (N=80)	Ortalama (%)	Çalışma İçi		Laboratuvar Bünyesinde	
		SD (%)	CV %	SD (%)	CV %
Kontrol N	5,16	0,02	0,35	0,02	0,44
Kontrol P	10,28	0,02	0,18	0,03	0,29
Tam kan 1	5,47	0,02	0,32	0,03	0,54
Tam kan 2	6,63	0,02	0,33	0,03	0,45
Tam kan 3	9,32	0,02	0,22	0,04	0,46
Tam kan 4	11,38	0,03	0,27	0,05	0,41

*Temsili verilerdir; farklı laboratuvarlardaki farklı enstrümanlarla sonuçlar farklılık gösterebilir.

■ Analitik Özgüllük

1. Endojenöz maddeler ve İlaçlar

Farklı konsantrasyonda etkileşime sahip madde içeren numuneler, insan numune havuzlarına etkileşimi olan madde ilave edilerek hazırlanmıştır ve geri kazanımlar, karşılık gelen kontrol değerinin $\pm\%5,0$ 'ı dahilinde olup, bu değer anlamlı bir etkileşime sahip olmadığı kabul edilir.

Aşağıdaki maddeler, etkileşim açısından bu yöntemle test edildiğinde anlamlı bir etkileşim gözlemlenmemiştir. BS-600M ile ilgili etkileşim çalışmalarının verileri (NGSP/DCCT'ye göre hesaplanmıştır) aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir*.

Etkileşen Madde	Etkileşme Konsantrasyonu	Analit Konsantrasyon	Bağıl Sapma
Askorbik asit	3 mg/dL	%6,64	%+0,41
Konjüge bilirubin	15 mg/dL	%6,63	%-2,06
Unkonjüge bilirubin	10 mg/dL	%6,66	%-2,19
Trigliserid	2000 mg/dL	%6,67	%-0,10
Melbine	5,1 mg/dL	%6,61	%-0,40
Ibuprofen	50 mg/dL	%6,59	%+0,15
Akarboz	50 mg/dL	%6,58	%-0,08
Panadol	200 µg/mL	%6,59	%-3,07
Aspirin	50 mg/dL	%6,56	%0,00

*Temsili verilerdir; farklı laboratuvarlardaki farklı enstrümanlarla sonuçlar farklılık gösterebilir.

2. Hemoglobin Türevleri

Farklı hemoglobin türüne sahip numuneler, insan numune havuzlarıyla potansiyel etkileşimi olan madde ilave edilerek elde edilmiştir ve geri kazanımlar, karşılık gelen kontrol değerinin \pm %5,0'ı dahilinde olup, bu değer anlamlı bir etkileşime sahip olmadığı kabul edilir.

Aşağıdaki maddeler, etkileşim açısından bu yöntemle eklendiğinde anlamlı bir etkileşim gözlemlenmemiştir. BS-600M ile ilgili etkileşim çalışmalarının verileri (NGSP/DCCT'ye göre hesaplanmıştır) aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir*.

Hemoglobin Türevleri Tipi	Analit Konsantrasyon	Bağıl Sapma
\geq 50 mg/dL Aspirin eklenerek elde edilen Asetillenmiş Hemoglobin	%6,50	%+0,71
\geq 10 mmol/L Siyanat eklenerek elde edilen Karbamilenmiş Hemoglobin	%6,61	%-1,43
\geq 1000 mg/dL Glukoz eklenerek elde edilen Labil Hemoglobin	%6,61	%-1,13

*Temsili verilerdir; farklı laboratuvarlardaki farklı enstrümanlarla sonuçlar farklılık gösterebilir.

3. Hemoglobin Varyantları



Özgüllük, anormal hemoglobinler içeren numuneler için Hemoglobin A1c değerleri ile referans değerleri karşılaştırılarak değerlendirilmiştir ve geri kazanımlar, karşılık gelen kontrol değerinin \pm %5,0'ı dahilinde olup, bu değer anlamlı bir etkileşime sahip olmadığı kabul edilir.

Heterozigot hemoglobin varyantlarının (Hb-C, Hb-D, Hb-E, Hb-S, HbA2) Hemoglobin A1c tayiniyle etkileşimi yoktur.

BS-600M ile ilgili hemoglobin varyantları çalışmalarına dair veriler (NGSP/DCCT'ye göre hesaplanmıştır) aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir.

Hemoglobin Varyantı	Referans Konsantrasyon ile Bağıl % Farkı	
	\sim 6,5 %HbA1c	\sim 9,0 %HbA1c
Hb-C	%-3,42	%-3,29
Hb-D	%-1,24	%-0,74
Hb-E	%+1,53	%+1,36
Hb-S	%-1,05	%-1,39
HbA2	%+3,22	%+3,85
Hb-F	Numunedeki HbF miktarı %5'i aştığında fark %-5'in üstüne çıkar*.	

7. Görünürde sızıntı, çökelti veya mikrobiyal büyüme belirtileri varsa ya da kalibrasyon veya kontroller kitapçıkta belirtilenleri ve/veya Mindray Sistemi kriterlerini karşılamıyorsa istikrarsızlık veya bozulmadan şüphelenilmelidir.
8. Paketin kitapçığında belirtilen talimatlara uyulmadığı takdirde tavin sonuçlarının güvenilirliği garanti edilmez.
9. Koruyucu içermektedir. Yutmayın. Ciltle ve mükoz membranlarla teması önleyin.
10. Reaktifler yanlışlıkla göze veya ağza kaçarsa ya da cilde temas ederse derhal bol suyla yıkayın. Gerekirse, daha ayrıntılı tedavi için doktora başvurun.
11. Uzman kullanıcıların talebi üzerine güvenlik bilgi formu mevcuttur.
12. Tüm atıklar, yerel yönetmeliğe uygun şekilde bertaraf edin.
13. İnsanlardan elde edilen tüm materyal potansiyel olarak enfeksiyöz kabul edilmelidir.
14. Belirlenen tüm riskler, fayda-risk oranını olumsuz etkilemeyecek şekilde mümkün olduğunca azaltılmıştır ve genel kalıntı riski kabul edilebilir düzeydedir.
15. Cihazla ilgili olarak meydana gelen herhangi bir ciddi olay, üreticiye ve kullanıcının ve/veya hastanın ikamet ettiği Üye Devletin yetkili makamına bildirilecektir.
16. Bu kit, 1272/2008 Sayılı Düzenlemeye (EC) göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılan bileşenleri içerir:

 	
Tehlike	
H317	Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir.
H360D	Anne karnındaki bebeklere zarar verebilir.
H412	Uzun süreli etkileri nedeniyle su yaşamı için zararlıdır.
Önleme:	
P201	Kullanmadan önce özel talimatları edinin.
P280	Koruyucu eldiven ve giysi giyin.
P261	Buğu/buhar/sprey solumaktan kaçının.
P273	Çevreye salınmamasına dikkat edin.
P272	Kirlenmiş iş kıyafetlerinin iş yerinden dışarı çıkmasına izin verilmemelidir.

Tepki:	
P308+P313	Maruz kalınması veya şüphe durumunda: Tıbbi tavsiye/müdahale alın.
P302+P352	CİLTTEYSE: Bol suyla yıkayın.
P333+P313	Cilt tahrişi veya kızarıklık meydana gelirse: Tıbbi tavsiye/müdahale alın.
P362+P364	Kirlenmiş giysileri çıkarm ve tekrar kullanmadan önce yıkayın.
Bertaraf Etme:	
P501	İçeriği/kabı, herhangi bir yerel düzenlemeye uygun olarak yetkili tehlikeli veya özel atık toplama noktasına atın.

Referanslar

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Elsevier Saunders 2012;1441-1447.
2. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA et al. Tests of glycemia in diabetes. Diabetes Care, 1995;18:896-909.
3. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. Diabetes Care, 1994;17:938-939.
4. 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.
5. Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. Diabetes, 1993;42:1549-1554.
6. 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.
7. Nathan DM, Kuenen J, Borg R et al. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. Diabetes Care, 2008; 31:1473-1478.
8. Wu, Alan HB. Tietz clinical guide to laboratory tests. 4th ed. Elsevier Health Sciences, 2006; 480.
9. Hanas R, John G, International HbA1c Consensus Committee. 2010 Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. ClinChem Lab Med, 2010;48:775-776.
10. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

11. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Sample; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
12. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. Washington, DC: AACC Press; 2000:3-433,3-434.

Graphical symbols

In Vitro Diagnostic
medical device



Unique device
identifier



European
Conformity



Consult Instructions
For use



Use-by
date



Authorized representative in
the European Community



Batch Code



Temperature
limit



Manufacturer



Catalogue
number



Keep away from sunlight

Indicates a medical device that needs protection from light sources

HbA1c

mindray

© 2022-2023 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Tüm Hakları Saklıdır

Üretici: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Adres: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-Tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057, P. R. Çin

E-posta Adresi: service@mindray.com

Web sitesi: www.mindray.com

Tel: +86-755-81888998; **Faks:** +86-755-26582680

AT Temsilcisi: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Avrupa)

Adres: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Almanya

Tel: 0049-40-2513175; **Faks:** 0049-40-255726

HbA1c

Kit hémoglobine A1c (méthode de dosage enzymatique)

mindray



Informations de commande

Cat. No.	Taille du paquet
105-002165-00	R (Hb) : 1 × 30 mL + R1 (HbA1c) : 1 × 30 mL + R2 (HbA1c) : 1 × 12 mL + RO : 1 × 150 mL
105-002166-00	R (Hb) : 1 × 40 mL + R1 (HbA1c) : 1 × 40 mL + R2 (HbA1c) : 1 × 15 mL + RO : 1 × 200 mL
105-002167-00	R (Hb) : 2 × 40 mL + R1 (HbA1c) : 2 × 40 mL + R2 (HbA1c) : 2 × 15 mL + RO : 2 × 150 mL
105-009338-00	R1 : 1 × 40 mL + R2 : 1 × 15 mL + RO : 3 × 40 mL
105-005737-00	R1 : 1 × 40 mL + R2 : 1 × 15 mL + RO : 1 × 200 mL
105-005738-00	R1 : 2 × 40 mL + R2 : 2 × 15 mL + RO : 3 × 58 mL

Destination prévue

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'Hémoglobine A1c (HbA1c) dans le sang total humain à l'aide des analyseurs chimiques Mindray BS. Le test est conçu pour diagnostiquer le diabète et suivre les effets de son traitement.

Résumé¹⁻⁷

L'Hémoglobine (Hb) se compose de 4 chaînes peptidiques, chacune associée à 1 hème. Il s'agit de la protéine rouge qui se trouve dans les érythrocytes. Sa fonction principale est le transport de l'oxygène et du dioxyde de carbone dans le sang. Chaque molécule d'hémoglobine peut fixer 4 molécules d'oxygène. L'hémoglobine se compose de nombreuses sous-fractions et dérivés. Au sein de ce groupe hétérogène d'hémoglobines se trouve l'hémoglobine glyquée ou HbA1c, une sous-fraction formée par la fixation de différents sucres à la molécule d'Hb. L'HbA1c se forme en deux étapes par la réaction non enzymatique du glucose avec l'extrémité N-terminale des chaînes β de la molécule d'Hb d'un adulte sain (HbA). Cette première étape est réversible et produit une HbA1c labile. Celle-ci se réarrange ensuite lentement au cours de la deuxième étape de la réaction pour devenir une HbA1c stable. Dans les érythrocytes, la quantité relative de HbA convertie en HbA1c stable augmente en fonction de la concentration moyenne en glucose dans le sang. La conversion en HbA1c stable est limitée par la durée de vie des érythrocytes, comprise entre 100 et 120 jours environ. Par conséquent, le taux de HbA1c fournit une indication du niveau de glycémie dans les 2 à 3 mois précédant sa mesure. HbA1c est donc un indicateur approprié pour la surveillance à long terme de la glycémie chez les personnes souffrant de diabète sucré. La glycémie récente a une influence prépondérante

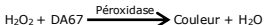
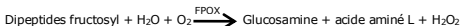
HbA1c

mindray

sur le taux de HbA1c. La relation approximative entre HbA1c et la glycémie des 2 à 3 mois précédents a été analysée par plusieurs études.

Principe du dosage

Méthode de dosage enzymatique



Au cours de la première réaction, la concentration en hémoglobine est mesurée par l'absorbance d'une longueur d'onde fixe. Les dipeptides fructosyls sont générés en parallèle par les protéinases à partir de l'extrémité N-terminale des chaînes β de la molécule HbA1c. Dans la deuxième réaction, la réaction de la fructosyl-peptide-oxydase (FPOX) avec les dipeptides fructosyls génère un hydroperoxyde permettant au sel de sodium (DA67) 10-(carboxyméthylaminocarbonyl)-3,7-bis (diméthyl-amino) phénouthiazine de se colorer en présence d'une peroxydase. La mesure de l'évolution de l'absorbance permet de déterminer le taux de HbA1c. Les résultats du dosage combiné de l'hémoglobine et de l'HbA1c sont utilisés par le système pour calculer et indiquer le pourcentage d'HbA1c.

Composants des réactifs

	N,N-Diméthylformamide	< 10,0 g/L
	Chlorure de calcium	< 2,0 g/L
R(Hb)/R1(HbA1c)/R1 :	Protéinase	> 500 KU/L
	DA67	0,1 mmol/L
	ProClin 300	0,05 %
	Azide de sodium	< 0,01 %
R2(HbA1c)/R2 :	Péroxydase	> 1 500 U/l
	Fructosyl-peptide-oxydase	> 1 500 U/l
R0(Solution de prétraitement)	NaNO ₂	1,0 g/L
	ProClin 300	0,05 %

Stockage et stabilité

Jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, lorsqu'il est conservé fermé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière.

Les réactifs sont stables pendant 28 jours lorsqu'ils sont chargés et réfrigérés dans l'analyseur.

Toute contamination doit être évitée.

Ne pas congeler le réactif.

3. Avertissement : la hauteur de l'échantillon total dans le tube anticoagulant ne doit pas dépasser 55 mm, tandis que la hauteur du culot sanguin obtenu après centrifugation ne doit pas être inférieure à 10 mm. Si les hauteurs ne sont pas satisfaisantes, ajustez-les ou optez pour une lyse manuelle.
4. Avertissement : les récipients à microéchantillons et les microtubes de centrifugation Eppendorf ne sont pas autorisés.

■ Lyse manuelle

1. Placez 25 µL de cellules sanguines provenant du culot cellulaire dans un récipient à échantillon ou un microtube de centrifugation Eppendorf. Les cellules sanguines sont facilement adsorbées par la sonde d'échantillonnage et la pipette, ce qui peut entraîner un dépassement du volume cible.
2. Ajoutez 500 µL de solution de prétraitement dans le tube à essai.
3. Fermez le tube à essai et lysez le sang en retournant le tube 10 fois ou en l'agitant à l'aide d'un vortex pendant 10 secondes.
4. L'hémolysat peut être utilisé comme échantillon analytique après 4 minutes.
5. Les volumes de cellules sanguines et de solution de prétraitement peuvent être augmentés en proportion égale si nécessaire.
6. Les échantillons doivent être testés le plus rapidement possible après le traitement préanalytique.

■ Stabilité des échantillons

Stabilité du sang total : 8 heures à une température comprise entre 15 et 25 °C

7 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C⁸

30 jours à une température comprise entre (-25) et (-15) °C

Stabilité de l'hémolysat : 8 heures à une température comprise entre 15 et 25 °C

24 heures à une température comprise entre 2 et 8 °C

Ne pas congeler les échantillons de sang total. Les indications de stabilité des échantillons ont été établies par le fabricant et/ou sont basées sur des références. Chaque laboratoire doit établir ses propres critères de stabilité des échantillons.

Préparation du réactif

R(Hb)/R1(HbA1c)/R1, R2(HbA1c)/R2 et la solution de prétraitement sont prêts à l'emploi.

Veillez effectuer les procédures de maintenance planifiées et effectuer les opérations standard, dont le calibrage et l'analyse, pour assurer la performance du système de mesure.

Matériel nécessaire, mais non fourni

1. Matériel général de laboratoire : eau déminéralisée/déionisée.
2. Calibrateur et contrôle : veuillez consulter la section relative aux instructions concernant les réactifs De Calibrage et de Contrôle qualité.
3. Analyseurs chimiques Mindray BS et équipement général de laboratoire.

Procédure du dosage**■ Test non double**

L'hémoglobine a été analysée à l'aide du réactif R(Hb), et l'HbA1c a été analysée à l'aide du réactif R1(HbA1c)/R2(HbA1c).

■ Test double

L'hémoglobine et l'HbA1c ont été simultanément analysées à l'aide du réactif R1/R2.

1. Hb

Éléments de paramétrage	Analyseurs chimiques BS-800
Type de dosage	Point final
Longueur d'onde (principale/secondaire)	505/800 nm
Orientation de la réaction R(Hb)/R1(HbA1c)	Augmentation 180 µL
Incubez à 37 °C pendant 1 min, lisez l'absorbance A1, puis ajoutez :	
Échantillon ou Calibrateur	12 µL
Mélangez soigneusement, incubez à 37 °C pendant 5 min, puis lisez l'absorbance A2	
Puis calculez $\Delta A_{\text{Hb-calibrateur}} = (A2-A1)$ pour le calibrateur, $\Delta A_{\text{Hb-échantillon}} = (A2-A1)$ pour l'échantillon	

2. HbA1c

Éléments de paramétrage	Analyseurs chimiques BS-800
Type de dosage	Point final
Longueur d'onde (principale/secondaire)	660/800 nm
Orientation de la réaction R1(HbA1c)/R1	Augmentation 180 µL
Échantillon ou Calibrateur	12 µL
Mélangez, incubez à 37 °C pendant 5 min, lisez l'absorbance A1, puis ajoutez :	
R2(HbA1c)/R2	60 µL
Mélangez soigneusement, incubez à 37 °C pendant 5 min, puis lisez l'absorbance A2	

Puis calculez $\Delta A_{\text{HbA1c-calibrateur}} = (A2-A1)$ pour le calibrateur,
 $\Delta A_{\text{HbA1c-échantillon}} = (A2-A1)$ pour l'échantillon

3.% d'HbA1c

Le pourcentage d'HbA1c est la façon la plus courante de rapporter le taux d'HbA1c. Le taux d'hémoglobine A1c est rapporté en mmol/mol (IFCC) ou en pourcentage (NGSP) :

Selon la norme IFCC, le protocole 1 indique : HbA1c (mmol/mol) = HbA1c/Hb \times 1 000

Selon la norme NGSP/DCCT, le protocole 2 indique : HbA1c (%) = $91,5 \times \text{HbA1c/Hb} + 2,15$

Les paramètres peuvent varier d'un analyseur chimique à l'autre et peuvent être ajustés proportionnellement si nécessaire. Pour les analyseurs chimiques Mindray BS, les paramètres des réactifs sont disponibles sur demande. Veuillez consulter le manuel d'utilisation correspondant pour obtenir des informations sur le dosage propre à l'analyseur.

Calibrage

1. Il est recommandé d'utiliser le Calibrateur Mindray (Calibrateur HbA1c : 105-003680-00 ou d'autres calibrateurs appropriés) pour le calibrage en deux points. La traçabilité du Calibrateur de l'HbA1c peut faire référence aux instructions d'utilisation du calibrateur Mindray.

2. Fréquence de calibrage

Le calibrage est stable pendant environ 28 jours dans les analyseurs chimiques BS-800. La stabilité du calibrage peut varier d'un instrument à l'autre et chaque laboratoire doit définir une fréquence de calibrage dans les paramètres de l'instrument en fonction de son mode d'utilisation.

Un nouveau calibrage peut être nécessaire dans les cas suivants :

- Lors du changement de lot de réactifs.
- À la suite d'une procédure de contrôle qualité ou d'un événement incontrôlé, comme cela est requis.
- Lors de l'exécution d'une procédure de maintenance spécifique ou de dépannage des analyseurs chimiques.

3. Les valeurs du calibrateur dépendent du lot et les modèles correspondants sont répertoriés sur la feuille des valeurs.

Contrôle qualité

1. Il est recommandé d'utiliser le Contrôle Mindray (Contrôle HbA1c : 105-002140-00, 105-002138-00 ou d'autres contrôles adaptés) pour vérifier la performance de la procédure de mesure. D'autres matériels de contrôle adaptés peuvent également être utilisés.

2. Deux niveaux de matériel de contrôle sont recommandés pour l'analyse de chaque lot d'échantillons. De plus, le contrôle doit être effectué lors de chaque nouveau calibrage, avec chaque nouvelle cartouche de réactif et après des procédures spécifiques de maintenance ou de dépannage, comme il est détaillé dans le manuel du système correspondant.
3. Chaque laboratoire doit mettre en place son propre système de contrôle qualité interne, ainsi que des procédures correctives si les résultats du contrôle ne sont pas compris dans les limites tolérées.

Calcul

$C \text{ échantillon} = (\Delta A \text{ échantillon} / \Delta A \text{ calibrateur}) \times C \text{ calibrateur}$.

L'analyseur chimique BS détecte la variation de l'absorbance (ΔA) et calcule automatiquement la concentration Hb/HbA1c de chaque échantillon après calibrage.

Le système calcule les valeurs d'HbA1c et d'hémoglobine en $\mu\text{mol/L}$ (unités SI). Pour convertir les résultats en g/dL (unités courantes), utilisez l'équation suivante :

Facteur de conversion : $\mu\text{mol/L} \times 0,1354 = \text{g/dL}$.

Valeurs attendues⁹

	Type d'échantillon	Unités S.I.
Sang total	Selon la norme IFCC	20,20 à 42,06 mmol/mol
	Selon la norme NGSP/DCCT	4,0 % à 6,0 %

Les valeurs attendues sont fournies à titre indicatif ; elles ont été établies par Mindray à partir de 60 échantillons obtenus chez des personnes habitant le sud de la Chine.

Chaque laboratoire doit mettre en place ses propres intervalles de référence en fonction de ses caractéristiques locales et de celles de sa population, car les valeurs attendues peuvent varier selon la géographie, la race, le sexe et l'âge.

Caractéristiques des performances

■ Sensibilité analytique

Le Kit d'Hémoglobine A1c a une sensibilité analytique de $60 \mu\text{mol/L}$ pour l'Hb, $2 \mu\text{mol/L}$ pour l'HbA1c sur l'analyseur BS-400. La sensibilité analytique est définie comme la plus faible concentration d'analyte qui peut être différenciée d'un échantillon qui ne contient pas d'analyte. Elle est calculée comme la valeur se situant à 3 écarts-types au-dessus de la moyenne de 20 répétitions d'un échantillon sans analyte.

■ Plage de mesure

Les systèmes Mindray BS offrent la plage de linéarité suivante :

Type d'échantillon	Unités S.I.
Sang total	3 % à 16 % (NGSP/DCCT)

Un échantillon de forte concentration d'HbA1c (environ 16 %) est mélangé à un échantillon de faible concentration (<3 %), selon différents ratios, pour créer une série de dilutions. La concentration en HbA1c de chaque dilution est déterminée à l'aide du système Mindray et la plage de linéarité est démontrée grâce à un coefficient de corrélation $r \geq 0,9900$. La plage obtenue est de 3 % à 16 % (NGSP/DCCT), car le ratio ne peut être résolu par la dilution.

■ Précision

La précision a été déterminée en suivant les lignes directrices EP05-A3 approuvées par le CLSI¹⁰. Chaque échantillon a été analysé 2 fois par cycle, 2 cycles par jour, sur un total de 20 jours. Les données relatives à la précision des contrôles (calculées selon la norme NGSP/DCCT) sur l'analyseur BS-400 sont résumées dans les tableaux suivants*.

Type de spécimens (N = 80)	Moyenne (%)	Entre les cycles		Entre les laboratoires	
		Écart-Type (%)	CV (%)	Écart-Type (%)	CV (%)
Contrôle N	4,43	0,14	3,19	0,17	3,79
Contrôle P	9,32	0,13	1,43	0,16	1,75

* Données représentatives, les résultats sont obtenus avec différents instruments et les laboratoires peuvent varier.

■ Spécificité analytique

Des échantillons avec différentes concentrations de substances interférentes ont été préparés par ajout de substances interférentes à des groupes d'échantillons humains. Les résultats obtenus doivent se situer dans une fourchette de ± 10 % de la valeur de contrôle correspondante pour conclure à l'absence d'interférence significative.

Aucune interférence significative n'a été observée lorsque les substances ci-dessous ont été testées pour leur interférence avec cette méthodologie. Les données relatives aux études d'interférences (calculées selon la norme NGSP/DCCT) sur l'analyseur BS-400 sont résumées ci-dessous.

2. Mélangez soigneusement tous les échantillons à l'aide d'un vortex à faible vitesse ou en les retournant doucement 10 fois avant de les charger sur le système Mindray BS.
3. Le rapport entre les volumes de sang total et de solution de prétraitement est de 10 μ L:200 μ L.
4. Avertissement : la hauteur de l'échantillon total dans le tube anticoagulant doit être comprise entre 10 et 55 mm. Si ce n'est pas le cas, ajustez-la ou optez pour une lyse manuelle.
5. Avertissement : les récipients à microéchantillons et les microtubes de centrifugation Eppendorf ne sont pas autorisés.

■ Lyse manuelle

1. Mélangez soigneusement tous les échantillons à l'aide d'un vortex à faible vitesse ou en les retournant doucement 10 fois.
2. Placez 10 μ L de sang total dans un récipient à échantillon ou un microtube de centrifugation Eppendorf. Le sang total est facilement adsorbé par la sonde d'échantillonnage et la pipette, ce qui peut entraîner un dépassement du volume cible.
3. Ajoutez 200 μ L de solution de prétraitement dans le tube à essai.
4. Fermez le tube à essai et lysez le sang en retournant le tube 10 fois ou en l'agitant à l'aide d'un vortex pendant 10 secondes.
5. L'hémolysat peut être utilisé comme échantillon analytique après 4 minutes.
6. Les volumes de sang total et de solution de prétraitement peuvent être augmentés en proportion égale si nécessaire.
7. Les échantillons doivent être testés le plus rapidement possible après le traitement préanalytique.

■ Stabilité des échantillons

Stabilité du sang total : 8 heures à une température comprise entre 15 et 25 °C

7 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C

30 jours à une température comprise entre (-25) et (-15) °C

Stabilité de l'hémolysat : 8 heures à une température comprise entre 15 et 25 °C

24 heures à une température comprise entre 2 et 8 °C

Les indications de stabilité des échantillons ont été établies par le fabricant et/ou sont basées sur des références. Chaque laboratoire doit établir ses

propres critères de stabilité des échantillons.

Matériel nécessaire, mais non fourni

1. Les analyseurs chimiques Mindray BS-600M ou d'autres analyseurs qui ont pour fonction de doser l'HbA1c à partir d'échantillons de sang total sans centrifugation et l'équipement général de laboratoire.

Procédure du dosage

Test double : les concentrations d'hémoglobine et d'HbA1c ont été mesurées à l'aide du réactif R1/R2.

1.Hb

Éléments de paramétrage	analyseurs chimiques BS-600M
Type de dosage	Point final
Longueur d'onde (principale/secondaire)	505/800 nm
Orientation de la réaction	Augmentation
R1	90 µL
Incubez à 37 °C pendant 1 min, lisez l'absorbance A1, puis ajoutez :	
Échantillon ou Calibrateur	8 µL
Mélangez soigneusement, incubez à 37 °C pendant 5 min, puis lisez l'absorbance A2	
Puis calculez $\Delta A_{\text{Hb-calibrateur}} = (A2-A1)$ pour le calibrateur, $\Delta A_{\text{Hb-échantillon}} = (A2-A1)$ pour l'échantillon	

2.HbA1c

Éléments de paramétrage	analyseurs chimiques BS-600M
Type de dosage	Point final
Longueur d'onde (principale/secondaire)	660/800 nm
Orientation de la réaction	Augmentation
R1	90 µL
Échantillon ou Calibrateur	8 µL
Mélangez, incubez à 37 °C pendant 5 min, lisez l'absorbance A1, puis ajoutez :	
R2	24 µL
Mélangez soigneusement, incubez à 37 °C pendant 5 min, puis lisez l'absorbance A2	

Puis calculez $\Delta A_{\text{HbA1c-calibrateur}} = (A2-A1)$ pour le calibrateur,
 $\Delta A_{\text{HbA1c-échantillon}} = (A2-A1)$ pour l'échantillon

3. % d'HbA1c

Le pourcentage d'HbA1c est la façon la plus courante de rapporter le taux d'HbA1c. Le taux d'hémoglobine A1c est rapporté en mmol/mol (IFCC) ou en pourcentage (NGSP) :

Selon la norme IFCC, le protocole 1 indique : HbA1c (mmol/mol) = HbA1c/Hb \times 1 000

Selon la norme NGSP/DCCT, le protocole 2 indique : HbA1c (%) = 91,5 \times HbA1c/Hb + 2,15

Les paramètres peuvent varier d'un analyseur chimique à l'autre et peuvent être ajustés proportionnellement si nécessaire. Pour les analyseurs chimiques Mindray BS, les paramètres des réactifs sont disponibles sur demande. Veuillez consulter le manuel d'utilisation correspondant à chaque analyseur.

« **Calibrage** » et « **Contrôle qualité** » font référence à la section de « l'HbA1c à partir d'échantillons de sang total obtenus sans centrifugation. ».

Calcul

C échantillon = (ΔA échantillon/ ΔA calibrateur) \times C calibrateur.

L'analyseur chimique BS détecte la variation de l'absorbance (ΔA) et calcule automatiquement la concentration Hb/HbA1c de chaque échantillon après calibrage.

Le système calcule les valeurs d'HbA1c et d'hémoglobine en $\mu\text{mol/L}$ (unités SI). Pour convertir les résultats en g/dL (unités courantes), utilisez l'équation suivante :

Facteur de conversion : $\mu\text{mol/L} \times 0,1354 = \text{g/dL}$.

Dilution

Si la valeur de l'échantillon dépasse 300 $\mu\text{mol/L}$ (Hb) ou 39 $\mu\text{mol/L}$ (HbA1c), l'échantillon doit être dilué avec la solution de prétraitement (c.-à-d. 1 + 1) puis analysé de nouveau et la valeur d'Hb ou d'HbA1c obtenue doit être multipliée par 2. Aucun facteur de conversion n'est nécessaire pour le résultat d'HbA1c exprimé en mmol/mol (norme IFCC) et en pourcentage (norme DCCT/NGSP).

Valeurs attendues⁹

Type d'échantillon	Unités S.I.
Sang total	Selon la norme IFCC 20,20 à 42,06 mmol/mol
	Selon la norme NGSP/DCCT 4,0 % à 6,0 %

Les valeurs attendues sont fournies à titre indicatif ; elles ont été établies

par Mindray à partir de 60 échantillons obtenus chez des personnes habitant le sud de la Chine.

Chaque laboratoire doit mettre en place ses propres intervalles de référence en fonction de ses caractéristiques locales et de celles de sa population, car les valeurs attendues peuvent varier selon la géographie, la race, le sexe et l'âge.

Caractéristiques des performances

■ Sensibilité analytique

La limite du blanc (LoB) et la limite de détection (LoD) ont été déterminées sur l'analyseur BS-600M conformément aux lignes directrices EP17-A2 approuvées par le CLSI.

Hb :	HbA1c :	% d'HbA1c (NGSP/DCCT) :
LoB = 4,55 µmol/L	LoB = 1,12 µmol/L	LoB = 2,97 %
LoD = 4,94 µmol/L	LoD = 1,17 µmol/L	LoD = 3,01 %

La limite du blanc est la valeur du 95^e percentile provenant de 60 mesures ou plus d'un ou plusieurs échantillons sans analyte sur plusieurs séries indépendantes. La limite du blanc correspond à la concentration en dessous de laquelle la probabilité de détecter des échantillons exempts d'analyte est de 95 %.

La limite de détection est déterminée en fonction de la limite du blanc et de l'écart-type des échantillons à faible concentration. La limite de détection correspond à la plus faible concentration de l'analyte qui peut être détectée (valeur supérieure à la limite du blanc avec une probabilité de 95 %).

■ Plage de mesure

Les systèmes Mindray BS offrent la plage de linéarité suivante :

Type d'échantillon	Unités S.I.	
	% d'HbA1c	3 % à 16 % (NGSP/DCCT)
Sang total	HbA1c	2 à 39 µmol/L
	Hb	60 à 300 µmol/L

% d'HbA1c : un échantillon de forte concentration de HbA1c (environ 16 %) est mélangé à un échantillon de faible concentration (< 3 %), selon différents ratios, pour créer une série de dilutions. La concentration en HbA1c% de chaque dilution est déterminée à l'aide du système Mindray et la plage de linéarité est démontrée grâce à un coefficient de corrélation $r \geq 0,9900$.

HbA1c (concentration en hémoglobine ≥ 100 µmol/L) : un échantillon de

forte concentration d'HbA1c (environ 39 $\mu\text{mol/L}$) est mélangé à un échantillon de faible concentration ($< 2 \mu\text{mol/L}$), selon différents ratios, pour créer une série de dilutions. La concentration en HbA1c de chaque dilution est déterminée à l'aide du système Mindray et la plage de linéarité est démontrée grâce à un coefficient de corrélation $r \geq 0,9900$.

Hb : un échantillon de forte concentration d'hémoglobine (environ 300 $\mu\text{mol/L}$) est mélangé à un échantillon de faible concentration ($< 60 \mu\text{mol/L}$), selon différents ratios, pour créer une série de dilutions. La concentration en d'hémoglobine de chaque dilution est déterminée à l'aide du système Mindray et la plage de linéarité est démontrée grâce à un coefficient de corrélation $r \geq 0,9900$.

■ Précision

La précision a été déterminée en suivant les lignes directrices EP05-A3 approuvées par le CLSI¹⁰. Chaque échantillon a été analysé 2 fois par cycle, 2 cycles par jour, sur un total de 20 jours. Les données relatives à la précision des contrôles et des échantillons humains (calculées selon la norme NGSP/DCCT) sur l'analyseur BS-600M sont résumées ci-dessous*.

Type de spécimens (N = 80)	Moyenne (%)	Entre les cycles		Entre les laboratoires	
		Écart-Type (%)	CV (%)	Écart-Type (%)	CV (%)
Contrôle N	5,16	0,02	0,35	0,02	0,44
Contrôle P	10,28	0,02	0,18	0,03	0,29
Sang total 1	5,47	0,02	0,32	0,03	0,54
Sang total 2	6,63	0,02	0,33	0,03	0,45
Sang total 3	9,32	0,02	0,22	0,04	0,46
Sang total 4	11,38	0,03	0,27	0,05	0,41

* Données représentatives, les résultats sont obtenus avec différents instruments et les laboratoires peuvent varier.

■ Spécificité analytique

1. Substances endogènes et médicaments

Des échantillons avec différentes concentrations de substances interférentes ont été préparés par ajout de substances interférentes à des groupes d'échantillons humains. Les résultats obtenus doivent se situer dans une fourchette de $\pm 5 \%$ de la valeur de contrôle correspondante pour conclure à l'absence d'interférence significative.

Aucune interférence significative n'a été observée lorsque les substances ci-dessous ont été testées pour leur interférence avec cette méthodologie. Les données relatives aux études d'interférences (calculées selon la

norme NGSP/DCCT) sur l'analyseur BS-600M sont résumées ci-dessous*.

Substance interférente	Concentration en substance interférente	Concentration Plage	Écart relatif
Acide ascorbique	3 mg/dl	6,64 %	+0,41 %
Bilirubine conjuguée	15 mg/dL	6,63 %	-2,06 %
Bilirubine non conjuguée	10 mg/dL	6,66 %	-2,19 %
Triglycéride	2 000 mg/dL	6,67 %	-0,10 %
Melbine	5,1 mg/dL	6,61 %	-0,40 %
Ibuprofène	50 mg/dL	6,59 %	+0,15 %
Acarbose	50 mg/dL	6,58 %	-0,08 %
Panadol	200 µg/mL	6,59 %	-3,07 %
Aspirine	50 mg/dL	6,56 %	0,00 %

* Données représentatives, les résultats sont obtenus avec différents instruments et les laboratoires peuvent varier.

2. Dérivés de l'Hémoglobine

Des échantillons avec différents types de dérivés de l'hémoglobine ont été obtenus par ajout de potentielles substances interférentes à des groupes d'échantillons humains. Les résultats obtenus doivent se situer dans une fourchette de ± 5.0 % de la valeur de contrôle correspondante pour conclure à l'absence d'interférence significative.

Aucune interférence significative n'a été observée lorsque les substances ci-dessous ont été ajoutées avec cette méthodologie. Les données relatives aux études d'interférences (calculées selon la norme NGSP/DCCT) sur l'analyseur BS-600M sont résumées ci-dessous*.

Types de Dérivés de l'Hémoglobine	Concentration Plage	Écart relatif
Hémoglobine acétylée générée par l'ajout de ≥ 50 mg/dL d'aspirine	6,50 %	+0,71 %
Hémoglobine carbamylée générée par l'ajout de ≥ 10 mmol/L de cyanate	6,61 %	-1,43 %
Hémoglobine labile générée par l'ajout de $\geq 1 000$ mg/dL de glucose	6,61 %	-1,13 %

* Données représentatives, les résultats sont obtenus avec différents instruments et les laboratoires peuvent varier.

3. Variants d'Hémoglobine

La spécificité a été évaluée en comparant les valeurs d'Hémoglobine A1c aux valeurs de référence pour les échantillons contenant des hémoglobines

anormales. Les résultats obtenus doivent se situer dans une fourchette de $\pm 5,0$ % de la valeur de contrôle correspondante pour conduire à l'absence d'interférence significative.

Les variants hétérozygotes de l'hémoglobine (Hb-C, Hb-D, Hb-E, Hb-S, HbA2) n'interfèrent pas avec le dosage de l'Hémoglobine A1c.

Les données statistiques relatives à l'étude des variants d'hémoglobine (calculées selon la norme NGSP/DCCT) sur l'analyseur BS-600M sont résumées dans le tableau suivant.

Hémoglobine Variant	Différence relative de % par rapport à la concentration de référence	
	~ 6,5 % d'HbA1c	~ 9,0 % d'HbA1c
Hb-C	-3,42 %	-3,29 %
Hb-D	-1,24 %	-0,74 %
Hb-E	+1,53 %	+1,36 %
Hb-S	-1,05 %	-1,39 %
HbA2	+3,22 %	+3,85 %
Hb-F	La différence dépasse -5 % lorsque la quantité de Hb-F présente dans l'échantillon est supérieure à 5 %*.	

* Une différence de pourcentage négative par rapport à l'Hb-F est proportionnelle en amplitude au pourcentage d'Hb-F présent dans l'échantillon. Par exemple, lorsque la quantité d'Hb-F dans l'échantillon était de 17 %, la différence de pourcentage était de -11,6 % sur le système Mindray BS-600M.

REMARQUE : la présence de plusieurs variants dans un échantillon peut avoir un impact sur la différence de pourcentage.


■ Méthode de comparaison

Des études de corrélation ont été réalisées en utilisant les lignes directrices EP09-A3 approuvées par le CLSI¹¹. Le système Mindray (Mindray BS-2800M/réactif HbA1c Mindray) (y) a été comparé avec un système de référence (Mindray H50/réactif HbA1c Mindray) (x) en utilisant les mêmes échantillons. Les données statistiques (calculées selon la norme NGSP/DCCT) obtenues par régression linéaire sont présentées dans le tableau ci-dessous* :

Ajustement de la régression	Coefficient de corrélation (r)	Échantillon (N)	Plage de concentration
$Y = 1,0178x - 0,08688$	0,9962	118	4,72 % à 15,65 %

* Données représentatives, les résultats sont obtenus avec différents instruments et les laboratoires peuvent varier.

12. La mise au rebut des déchets doit être effectuée en accord avec les directives locales.
13. Toute substance d'origine humaine doit être considérée comme potentiellement infectieuse.
14. Tous les risques identifiés ont été réduits autant que possible sans modifier le rapport bénéfice/risque. Le risque résiduel global est acceptable.
15. Tout événement grave associé à l'appareil doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient réside.
16. Ce kit contient des composants classés comme suit conformément à la réglementation (CE) n° 1272/2008 :

	
Danger	
H317	Peut entraîner une réaction cutanée allergique.
H360D	Peut nuire au fœtus.
H412	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
Prévention :	
P201	Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.
P280	Porter des gants et des vêtements de protection.
P261	Éviter d'inhaler la buée, les vapeurs ou le brouillard.
P273	Éviter tout rejet dans l'environnement.
P272	Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail.
Réaction :	
P308 + P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : Demandez un avis médical / consultez un médecin.
P302+P352	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Rincez abondamment à l'eau.
P333+P313	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : Obtenir un avis médical/ consulter un médecin.
P362+P364	Retirer les vêtements contaminés et les laver avant de les réutiliser.

Mise au rebut :

P501

Éliminer le contenu ou le récipient dans un point de collecte des déchets spéciaux ou dangereux conformément à la réglementation locale.

Références

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Elsevier Saunders 2012;1441-1447.
2. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA et al. Tests of glycemia in diabetes. Diabetes Care, 1995;18:896-909.
3. Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. Diabetes Care, 1994;17:938-939.
4. 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.
5. Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. Diabetes, 1993;42:1549-1554.
6. 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.
7. Nathan DM, Kuenen J, Borg R et al. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. Diabetes Care, 2008; 31:1473-1478.
8. Wu, Alan HB. Tietz clinical guide to laboratory tests. 4th ed. Elsevier Health Sciences, 2006; 480.
9. Hanas R, John G, International HbA1c Consensus Committee. 2010 Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. ClinChem Lab Med, 2010;48:775-776.
10. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
11. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Sample; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
12. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. Washington, DC: AACC Press; 2000:3-433,3-434.

Symboles graphiques

HbA1c

mindray



In Vitro Diagnostic
medical device



Unique device
identifier



European
Conformity



Consult Instructions
For use



Use-by
date



Authorized representative in
the European Community



Batch Code



Temperature
limit



Manufacturer



Catalogue
number



Keep away from sunlight

Indicates a medical device that needs protection from light sources

© 2022-2023 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Tous droits réservés.

Fabricant : Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Adresse : Mindray building, Keji 12th Road South, High-Tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 République populaire de Chine

Adresse électronique : service@mindray.com

Site Internet : www.mindray.com

Tél. : +86-755-81888998 ; **Fax** : +86-755-26582680

Représentant en Europe : Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Adresse : Eiffestraße 80, Hambourg 20537, Allemagne

Tél. : 0049-40-2513175 ; **Fax** : 0049-40-255726