

HbA1c - Turbidimetric

Latex Turbidimetry

REF CT33000 1 x 45 mL CONTENTS R1.Reagent 1 x 30 mL R2a. Reagent 1 x 10 mL R2b. Reagent 1 x 5 mL	REF 3156005 1 x 125 mL CONTENTS R1.Reagent 1 x 125 mL
For <i>in vitro</i> diagnostic use only	

SUMMARY

This method directly determinates the hemoglobin A1c (HbA1c) in whole blood, using an antigen and antibody reaction. Total hemoglobin and HbA1c compete for the unspecific absorption rate to the latex particles (R1). When anti-human HbA1c monoclonal antibody is added (R2), latex-HbA1c-anti-human HbA1c antibody complex is formed. The presence of goat anti-mouse IgG polyclonal antibody causes the agglutination of the particles (complexes). The amount of agglutination is proportional to the concentration of the HbA1c in the sample and can be measured by turbidimetry.

REAGENTS

R1. Latex Suspension. Polystyrene particles in a buffer, stabilizer. pH 8.0 +/- 0.2

R2a. Antibody A. Mouse anti-human HbA1c monoclonal antibody in a buffer.

R2b. Antibody B. Goat anti-mouse IgG polyclonal antibody in a buffer.

Lyse Reagent. Ref: 3156005 Buffer.

Precautions: The reagents contain sodium azide 0.95 g/L. Avoid any contact with skin or mucous.

PREPARATION

R1. Ready to use. Mix thoroughly before use.

R2. Pour the total volume of R2b vial into the R2a vial. Stable 30 days at 2-8°C.

HbA1c Calibrator Ref: 3955005. **Calibration curve:** Use the 4 levels of HbA1c Calibrator. Use distilled water as calibrator 0.

STORAGE AND STABILITY

- The reagents will remain stable until the expiration date printed on the label. Opened vials are stable 1 month when stored at 2-8°C. For optimal stability store **tightly closed** at 2-8°C. Do not use the reagents after the expiration date. Do not interchange reagents from different lots.
- Reagent deterioration: Presence of particles and turbidity.

SAMPLE COLLECTION

Venous blood collected with EDTA (Note 1).

- Dispense 1 mL *Lyse Reagent* into labeled tubes (Note 2): Controls, or patient samples.
- Place 20 µL of well mixed blood (patient sample or controls) to each tube. Mix.
- Incubate for 5 minutes at room temperature until complete lysis is evident. Stable 10 days at 2-8°C.

INTERFERENCES

- Bilirubin (50 mg/dL), ascorbic ac. (50 mg/dL), triglycerides (2000 mg/dL), carbamylated Hb (7.5 mmol/L), acetylated Hb (5.0 mmol/L), uremia and labile intermediates (Schiff base), do not interfere. Hemoglobin variants HbA2, HbC and HbS do not interfere. Other rare hemoglobins (e.g. HbE) have not been studied
- Other substances or drugs may interfere.¹¹

ADDITIONAL EQUIPMENT

- LIDA Analyzer.
- Laboratory equipment.
- iso-Clean Solution. Ref. CT18002.
- Linear HbA1c Calibrator Ref. 3955005.

AUTHOMATIC TECHNIQUE

For automatic assays the application method is included. Any application to an instrument should be validated to demonstrate that results meet the performance characteristics of the method. It is recommended to validate periodically the instrument.

CALIBRATION

Recalibrate weekly, when a new lot of reagent is used, when control recovery falls out of the expected range or when adjustments are made to the instrument. A reagent blank should be run daily before sample analysis.

EXPECTED VALUES

Table below indicates the cut-off values established by the *Diabetes Control and Complications Trial Research Group* (DCCT) and have been adopted for a reference population (non-diabetic) and for the evaluation of the degree blood glucose control in diabetic patients^{2,5}.

DCCT / NGSP	IFCC	Degree of control
4.0 – 6.0	2.0 – 4.2	Non Diabetic
6.0 – 6.5	4.2 – 4.8	Goal
6.5 – 8.0	4.8 – 6.4	Good Control
> 8.0	> 6.4	Action suggested

Each laboratory should establish its own expected values (Note 3 and 4).

QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control (QC), each run should include a set of HbA1c controls (ref: 3955010.) with assayed values handled as unknown. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

HbA1c is the product of the irreversible condensation of glucose with the N-terminal residue of β-chain of hemoglobin A. The concentration of HbA1c is directly proportional to the concentration of glucose in the blood, and represents the integrated values for glucose over the preceding 6 to 8 week. HbA1c values are free of day-to day glucose fluctuations and unaffected by exercise or recent food ingestion. The determination of HbA1c is most commonly performed for the evaluation of glycemic control in diabetic patients, although is not adequate for diabetes mellitus control. A higher HbA1c value indicates poorer glycemic control. This process, reflects the average exposure of hemoglobin to glucose over an extended period. HbA1c in diabetic subjects use to be elevated 2-3 fold over the levels found in normal individuals¹. HbA1c serve as an indicator of metabolic control of the diabetic, since HbA1c levels approach normal values for diabetics in metabolic control.²⁻⁴

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics are available on request.

NOTES

- HbA1c in whole blood collected with EDTA is stable for one week at 2-8°C⁵.
- Plastic or glass tubes are acceptable.
- In using HbA1c to monitor diabetic patients, results should be interpreted individually. That is, the patient should be monitored against himself. There is a 3-4 week time lag before HbA1c reflects changes in blood glucose level.
- Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.
- The linearity limit depends on the sample/reagent ratio, as well as the analyzer used. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.

BIBLIOGRAPHY

- Trivelli LA et al. *New Engl J Med* 1971; 284: 353.
- Gonen B and Rubinstein AH. *Diabetology* 1978; 15: 1.
- Gabby KH, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 44: 859.
- Bates HM. *Lab Mang* 1978; vol 16.
- Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, Philadelphia WB. Saunders Company 1999: 794-795.
- Little RR, et al. *Clin Chem* 1986;32: 358-360.
- Fluckiger, R et al. *New Eng J Med* 1981; 304: 823-827.
- Nathan DM, et al. *Clin Chem* 1989; 35: 93-97.
- Engbaek F, et al. *Clin Chem* 1989; 35: 93-97.
- American Diabetes Association: *Clinical Practice Recommendations* (Position Statement). *Diabetes Care* 2001; Suppl 1: S33-S55.
- Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*. 3th ed. AACC Press (1997).

CT3300-2/1012
R2.



HbA1c - Turbidimétrico

Turbidimetría Látex

REF CT33000 1 x 45 mL CONTENIDO R1. Reactivo 1 x 30 mL R2a. Reactivo 1 x 10 mL R2b. Reactivo 1 x 5 mL	REF 3156005 1 x 125 mL CONTENIDO R1. Reactivo 1 x 125 mL
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>	

FUNDAMENTO

El método utiliza la reacción antígeno-anticuerpo para la determinación directa de la hemoglobina A1c (HbA1c) en sangre total. La hemoglobina total y la HbA1c compiten por la adsorción a partículas de latex (R1). La adición de un anticuerpo monoclonal anti-HbA1c humana (R2), origina el complejo latex-HbA1c-anti-HbA1c humana que es aglutinado en presencia de anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón. La cantidad de aglutinación formada es proporcional a la concentración de HbA1c en la muestra y puede ser medida por turbidimetría.

REACTIVOS

R1. Látex. Partículas poliestireno en un tampón apropiado, pH 8,0 +/- 0,2.

R2a. Anticuerpo A. Anticuerpo monoclonal anti-HbA1c en tampón apropiado.

R2b. Anticuerpo B. Anticuerpo policlonal IgG de cabra anti-IgG de ratón en tampón.

Lysc Reagent. Ref: 3156005. Buffer.

Precauciones: Los reactivos del kit contienen azida sódica 0,95 g/L. Evitar contacto con piel y mucosas.

PREPARACION

R1. Listo para su uso. Mezclar suavemente antes de usar.

R2. Verter totalmente el contenido del vial R2b en el vial R2a. Mezclar. Estable 30 días a 2-8°C.

HbA1c Calibrator Ref: 3955005. **Curva de Calibración:** Utilizar los 4 niveles del Calibrador HbA1c. Utilizar agua destilada como calibrador 0.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Todos estos reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Los viales una vez abiertos, son estables 1 mes a 2-8°C. Para una estabilidad óptima mantener los reactivos **bien cerrados**. No usar los reactivos una vez caducados.

2. Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas y turbidez.

MUESTRAS

Sangre venosa recogida en EDTA (Nota 1).

1. Dispensar 1 mL de *Reactivo de Lisis* en tubos correctamente identificados (Nota 2). Controles, muestras.

2. Dispensar 20 µL de sangre (muestra o control) en el correspondiente tubo. Mezclar suavemente.

3. Incubar 5 minutos a temperatura ambiente hasta obtener una lisis completa de los hematíes. Estable 10 días a 2-8°C.

INTERFERENCIAS

- La bilirrubina (50 mg/dL), el ac. ascórbico (50 mg/dL), los triglicéridos (200 mg/dL), la hemoglobina carbamylada (7,5 mmol/L), la hemoglobina acetilada (5,0 mmol/L), la uremia y productos lábiles intermedios (bases de Schiff), no interfieren. Variantes de hemoglobina HbA2, y HbC y Hbs no interfieren en la valoración. Otras hemoglobinas raras como la HbE, no se han estudiado.
- Otras sustancias pueden interferir¹¹.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador LIDA.
- Material de laboratorio.
- iso-Clean Solution. Ref. CT18002.
- Linear HbA1c Calibrator Ref. 3955005.

TECNICA AUTOMATICA

Seguir las instrucciones incluidas en la adaptación del analizador. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.

CALIBRACION

Recalibrar semanalmente, al cambiar el lote de reactivos, cuando los valores del control estén fuera del rango de aceptación o cuando se realicen ajustes en el instrumento. Se recomienda hacer un blanco del reactivo cada día de trabajo antes de analizar las muestras.

VALORES DE REFERENCIA

La siguiente tabla indica los valores discriminantes establecidos por el *Diabetes Control and Complications Trial Research Group* (DCCT) y que han sido aceptados como referencia de la población no-diabética y para la evaluación del grado de glucosa en sangre en el control de pacientes diabéticos^{2,5}.

DCCT / NGSP	IFCC	Grado de Control
4,0 – 6,0	2,0 – 4,2	No Diabético
6,0 – 6,5	4,2 – 4,8	Objetivo
6,5 – 8,0	4,8 – 6,4	BuenControl
> 8,0	> 6,4	Actuación sugerida

Cada laboratorio debería establecer sus propios valores de referencia (Nota 3 y 4).

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad adecuado se incluirán en cada serie controles de HbA1c valorados (ref: 3955010) que se tratarán como muestras problema.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

HbA1c es el resultado de la condensación irreversible de la glucosa en el residuo N-terminal de la cadena B de la hemoglobina A. La concentración de HbA1c es directamente proporcional a la concentración de glucosa de la sangre, y representa los valores integrados de glucosa durante un periodo de tiempo de 6 a 8 semanas. El valor de HbA1c es independiente de las fluctuaciones diarias de la concentración de glucosa y no se ve afectado ni por el ejercicio físico ni por la ingestión de comida reciente.

La determinación de HbA1c es un buen complemento del seguimiento del control de glicemia en pacientes diabéticos, aunque no se considera adecuado para el control de la diabetes mellitus. Cuanto más elevado es el valor de HbA1c, menor es el control de glicemia. El proceso refleja el promedio de exposición de la hemoglobina a la glucosa durante un periodo largo de tiempo. El nivel de HbA1c en pacientes diabéticos acostumbra ser 2 o 3 veces superior que en individuos sanos¹⁻⁴.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

Las características analíticas están disponibles bajo solicitud.

NOTAS

1. HbA1c en sangre total recogida en EDTA es estable 1 semana a 2-8°C.
2. Son aceptables los tubos de vidrio o plástico.
3. Los resultados de HbA1c en pacientes diabéticos, deben interpretarse individualmente. Esto significa que el paciente debe monitorizarse consigo mismo. Existe un periodo de 3 a 4 semanas antes de que la HbA1c refleje cambios del nivel de la glucosa en sangre.
4. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que deben considerarse también los datos clínicos del paciente.
5. La linealidad del ensayo depende de la relación muestra/reactivo y analizador utilizado. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.

REFERENCIAS

1. Trivelli LA et al. *New Engl J Med* 1971; 284: 353.
2. Gonen B and Rubinstein AH. *Diabetology* 1978; 15: 1.
3. Gabby KH, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 44: 859.
4. Bates HM. *Lab Mang* 1978; vol 16.
5. Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, Philadelphia WB. Saunders Company 1999: 794-795.
6. Little RR, et al. *Clin Chem* 1986;32: 358-360.
7. Fluckiger, R et al. *New Eng J Med* 1981; 304: 823-827.
8. Nathan DM, et al. *Clin Chem* 1989; 35: 93-97.
9. Engbaek F, et al. *Clin Chem* 1989; 35: 93-97.
10. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). *Diabetes Care* 2001; Suppl 1: S33-S55.
11. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*. 3th ed. AACC Press (1997).



Aplicaciones en LIDA 300
Applications on LIDA 300

HbA1c-TURBIDIMETRIC

Two reagents method

HbA1c -Turbidimetric (1 x 45 mL), CT33000

USO
USE

Reactivo de diagnóstico in vitro para la determinación de hemoglobina A1c en sangre total.
In vitro diagnostic reagent for the determination of hemoglobin A1c in whole blood.

METODO
METHOD

Turbidimetría
Turbidimetry

MUESTRA
SAMPLE

Sangre venosa recogida en EDTA.
Venous blood collected with EDTA.

REACTIVOS
REAGENTS

Reactivo 1: Usar el Latex; Reactivo 2: Verter totalmente el contenido del vial R2b en el vial R2a. Mezclar. Estable 30 días a 2-8°C.
Reagent 1: Use the Latex; Reagent 2: Pour the total volume of R2b vial into the R2a vial. Mix. Stable 30 days at 2-8° C.

CALIBRACION
CALIBRATION

Curva de calibración
Calibration curve

CALIBRADOR
STANDARD

Linear HbA1c Calibrator. Code 3955005

CONTROL CALIDAD
QUALITY CONTROL

Linear HbA1c Control Level-I and Level II. Code 3955010

DETERMINACIONES
NUMBER OF TESTS

150 tests/kit Code CT33000
(no se considera el volumen muerto)
(dead volume is not taken in consideration)

LINEALIDAD
LINEARITY

Sin post-dilución automática: 1,5 - 15 %
Without automatic post-dilution: 1,5 – 15%

NOTA
NOTE

Para más información lea el prospecto del reactivo.
For additional information read reagent packaging insert.

NOTA DE AVISO
WARNING

La aplicación incluida se da solamente como pauta. Cualquier aplicación deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método.
The reported application is given only as a guideline. Any application to an instrument should be validated to demonstrate that results meet the performance characteristics of the method.



CALIBRATION PARAMETERS

Rule:	Spline	Calibrator 1:	Deionized Water
Factor K		Calibrator 2:	HbA1c CAL 1 (*)
Replicates	2	Calibrator 3:	HbA1c CAL 2 (*)
Interval		Calibrator 4:	HbA1c CAL 3 (*)
Sensitivity		Calibrator 5:	HbA1c CAL 4 (*)
Coefficient		(*) Insert concentration	
Error Limit			
Blank response			
Difference Limit			
SD			

TEST PARAMETERS

No.		
Test	HbA1c	
Method	Endpoint	
Direction	Ascend	
Unit	%	
Decimals	1	
Prim. Wave.	670	
Sec. Wave.	0	
Sample Vol. (µL)	6	
R1 Vol. (µL)	200	
R2 Vol. (µL)	100	
Line. Limit	0	
Incubation	25	
Reaction	0	25
Antigen	<input type="checkbox"/> Check Antigen	
Substrate		
Response	L Limit 0	U Limit 0
S. Volume	0	
Ratio	0	
R1 Blank	L Limit 0	U Limit 0
Mix. R Blank	L Limit 0	U Limit 0
Linearity	L Limit 2	U Limit 16
Full Name	HbA1c	
Print No.		

For other instrument software version please contact with LINEAR