

FRANÇAIS

POUR USAGE PROFESSIONNEL UNIQUEMENT

USAGE PRÉVU

Le dosage HbA1c est un immunodosage par immunoturbidimétrie destiné à la détermination quantitative du pourcentage d'hémoglobine A1c (HbA1c) dans le sang total humain réalisée sur des analyseurs chimiques cliniques. Les mesures du pourcentage d'HbA1c sont utilisées pour le suivi à long terme de la glycémie chez les patients diabétiques.

RÉSUMÉ


L'HbA1c est formée par la réaction du glucose avec le groupement aminé N-terminal de la chaîne bêta de l'hémoglobine. Le groupe de recherche de l'essai sur le contrôle et les complications du diabète (DCCT, Diabetes Control and Complications Trial) a rapporté qu'il existait un lien entre le pourcentage d'HbA1c et la glycémie moyenne au cours des 2 à 3 mois précédents¹. L'étude DCCT a également démontré que le contrôle à long terme du diabète pouvait permettre de prévenir les complications telles que les affections cardiovasculaires, la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie.

La mesure du pourcentage d'HbA1c est la méthode privilégiée pour le suivi du traitement des patients diabétiques^{2,3}.

PRINCIPE

Le dosage Axis-Shield HbA1c utilise l'interaction entre antigène et anticorps afin de déterminer directement la concentration de l'HbA1c (%) dans le sang total. Les échantillons de sang total sont traités à l'aide du diluant de lyse afin de lyser les globules rouges. L'échantillon lysé est ensuite incubé avec des microparticules de latex (réac. 1). L'hémoglobine et l'HbA1c sont capturées sur les microparticules. Lorsque l'anticorps (monoclonal de souris) anti-HbA1c (réac. 2) est ajouté, un complexe latex-HbA1c-anticorps se forme. Le niveau d'agglutination est mesuré par turbidimétrie, celui-ci étant proportionnel à la quantité d'HbA1c absorbée à la surface des microparticules.

COMPOSANTS DE LA TROUSSE


REAG 1	1 x 40,8 mL	Microparticules de latex 0,13 %, tampon, stabilisateurs. PRÊT À L'EMPLOI	
REAG 2	1 x 17,1 mL	Anticorps (monoclonal) de souris anti-HbA1c humaine 0,04 mg/mL, anticorps (polyclonal) anti-IgG de souris 0,06 mg/mL, tampon, stabilisateurs (Proclin 300) PRÊT À L'EMPLOI NB. AVERTISSEMENT	
LYSIS DILUENT	4 x 60,0 mL	Tampon, stabilisateurs (azoture de sodium, < 0,01 %). PRÊT À L'EMPLOI	

ÉQUIPEMENT ET MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Équipement de laboratoire général
- Eau distillée ou traitée par osmose inverse
- Trousse d'étalon Axis-Shield HbA1c, code produit FHHBA300
- Trousse de témoin Axis-Shield HbA1c, code produit FHHBA200

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

1. **IVD** Pour l'usage diagnostique in vitro.
2. Tous les déchets doivent être éliminés conformément aux directives locales.
3. Le diluant de lyse contient de l'azoture de sodium, lequel peut réagir avec les tuyaux en plomb ou en cuivre et former des azotures de métal hautement explosifs. Lors de la mise au rebut des réactifs, nettoyer à grande eau pour éviter l'accumulation des azotures.
4. Les fiches de sécurité des composants sont disponibles sur demande auprès d'Axis-Shield.

 REAG 2 AVERTISSEMENT	AVERTISSEMENT	<p>H315 – Provoque une irritation cutanée.</p> <p>H317 – Peut provoquer une allergie cutanée.</p> <p>H319 – Provoque une sévère irritation des yeux.</p>
	PRÉVENTION	<p>P264 – Se laver mains soigneusement après manipulation.</p> <p>P280 – Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/ du visage.</p>
	RÉPONSE	<p>P305+351+338 – EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.</p>
		<p>P332+313 – En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin.</p> <p>P362 – Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.</p>

CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Stabilité de la trousse après ouverture

- Diluant de lyse : Stable pendant 60 jours entre 2 et 8 °C après la première ouverture. Le produit ne doit pas être conservé à température ambiante pendant plus de 30 heures pendant son utilisation.

- Réac. 1 et réac. 2 : Stables lorsque conservés sur un analyseur réfrigéré pendant un maximum de 28 jours, sous réserve que toute contamination soit évitée. Si les réactifs sont retirés de l'analyseur, ils doivent à nouveau être conservés entre 2 et 8 °C. Passé le délai de 28 jours, les réactifs doivent être mis au rebut.

Stabilité de la trousse avant ouverture

Tous les composants restent stables entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Les réactifs ne doivent pas être congelés.

Remarques relatives à la manipulation et à l'utilisation

- Conserver les composants de la trousse entre 2 et 8 °C.
- Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.
- Ne pas utiliser après la date de péremption.
- **NE PAS CONGELER LES RÉACTIFS.**
- Après utilisation, les réactifs doivent être à nouveau conservés entre 2 et 8 °C s'ils ne peuvent pas être maintenus sur l'analyseur.
- Ne pas mélanger des réactifs ayant des numéros de lots différents.
- Utiliser un nouvel embout de pipette jetable à chaque manipulation de réactif ou d'échantillon afin d'éviter la contamination des réactifs.
- Les réactifs doivent être exempts de particules et doivent être éliminés s'ils deviennent troubles.

Signes de détérioration

L'apparition d'une turbidité ou d'un précipité dans un composant de la trousse est le signe d'une détérioration et le composant doit alors être mis au rebut. L'obtention de résultats situés en dehors de la plage acceptable recommandée pour les témoins Axis-Shield HbA1c peut également être le signe d'une instabilité du réactif, auquel cas les résultats obtenus ne sont pas valables. Les échantillons doivent être à nouveau testés.

CONSERVATION, RECUEIL ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

Recueil et manipulation

- Pour le recueil et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou des récipients de prélèvement adaptés.
- Seuls les échantillons indiqués ont été testés et jugés adéquats pour le dosage :
 - EDTA dipotassique (K2-EDTA)
 - Héparine de lithium (Li-Héparine)
- L'adéquation des autres tubes de prélèvement d'échantillons pour le dosage n'a pas été contrôlée.
- Ne pas utiliser les échantillons soumis aux conditions suivantes : inactivation par la chaleur, échantillons groupés (pool), contamination microbienne évidente.
- Lors de la manipulation des échantillons de patients, des précautions doivent être prises pour éviter toute contamination croisée. L'utilisation de pipettes ou d'embouts de pipette jetables est recommandée. Éliminer les bulles à l'aide d'une tige d'appliqueur avant l'analyse. Utiliser une nouvelle tige d'appliqueur pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée.

Préparation pour l'analyse

- Lors du traitement des échantillons, suivre les instructions fournies par le fabricant du tube de prélèvement.
- Tous les échantillons d'origine humaine doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Il est recommandé de manipuler ces substances conformément aux directives locales/nationales relatives aux procédures de sécurité en laboratoire.
- Échantillons frais/non congelés :
 - Ne pas centrifuger les échantillons frais/non congelés.
 - Les échantillons doivent être soigneusement mélangés avant utilisation.
- Échantillons congelés :
 - Laisser les échantillons se décongeler pendant un minimum de 30 minutes.
 - Mélanger soigneusement les échantillons décongelés en retournant le récipient à 4 reprises.
 - Inspecter visuellement les échantillons. Si des couches ou une stratification sont visibles, continuer de mélanger jusqu'à ce que l'échantillon soit visiblement homogène.
 - Pour assurer la cohérence des résultats, les échantillons congelés et décongelés doivent être transférés dans un tube de centrifugation et centrifugés à $\geq 10\,000$ FCR (force centrifuge relative) pendant 5 minutes avant de procéder au dosage.

Préparation manuelle de l'hémolysat

Afin de déterminer le taux d'HbA1c, un hémolysat doit être préparé pour chaque échantillon :

- Introduire 1 mL de diluant de lyse dans les tubes convenablement étiquetés.
Remarque : l'utilisation de tubes en plastique ou en verre de taille appropriée est acceptable.
- Placer 10 μ L de l'échantillon de sang total mélangé dans le tube convenablement étiqueté contenant le réactif de lyse.
- Mélanger soigneusement en passant doucement au vortex pendant 30 secondes.
- Laisser les échantillons reposer pendant 2 minutes jusqu'à ce que la lyse complète soit manifeste.
- Refermer le flacon du diluant de lyse immédiatement après utilisation.

Conservation et stabilité des échantillons

- Les échantillons de sang total restent stables pendant un maximum de :
 - 6 heures à température ambiante
 - 5 jours entre 2 et 8 °C ou 14 jours à -20 °C
 - Éviter des les soumettre à plusieurs cycles de congélation/décongélation.
- Les lysats (hémolysats) restent stables pendant un maximum de :
 - 6 heures à température ambiante
 - 5 jours entre 2 et 8 °C
 - 3 semaines à -20 °C
 - Éviter des les soumettre à plusieurs cycles de congélation/décongélation.
 - En cas de conservation sur l'appareil, le dosage ne doit pas être différé de plus de 2 heures.

PROCÉDURE DE DOSAGE

- Programmer l'appareil en suivant le protocole approprié spécifique à l'appareil. Voir la section Procédure analytique.
- Charger les réactifs et les échantillons selon les instructions propres à l'appareil.

NORMALISATION

Le dosage Axis-Shield HbA1c répond aux normes de référence de la Fédération internationale de chimie clinique (IFCC, International Federation of Clinical Chemistry).

ÉTALONNAGE

Pour l'étalonnage du dosage, utiliser le matériel d'étalonnage Axis-Shield indiqué dans la section « Matériel nécessaire ».

Les valeurs d'étalonnage sont spécifiques aux lots et figurent sur les étiquettes.

Fréquence d'étalonnage :

L'étalonnage reste stable pendant un maximum de 14 jours.

Un réétalonnage est également nécessaire après tout changement de lot de réactif, si des valeurs hors limites sont obtenues pour un témoin ou, au besoin, à la suite de procédures de contrôle qualité.

CONTRÔLE QUALITÉ

Pour le contrôle qualité, utiliser le matériel témoin Axis-Shield indiqué dans la section « Matériel nécessaire ». L'entretien et l'étalonnage de l'appareil doivent être effectués conformément aux instructions du mode d'emploi de l'analyseur utilisé.

Les utilisateurs doivent s'assurer qu'ils ont compris les instructions relatives à ce dosage, en particulier celles contenues dans les sections Mises en gardes et précautions, Manipulation des échantillons et Limites de la procédure. Il est recommandé d'utiliser les témoins et les étalons Axis-Shield HbA1c en deux exemplaires lors de chaque journée d'utilisation.

Les limites des témoins doivent être établies par chaque laboratoire, conformément aux procédures de contrôle qualité du laboratoire et/ou aux éventuelles directives locales ou gouvernementales.

RÉSULTATS

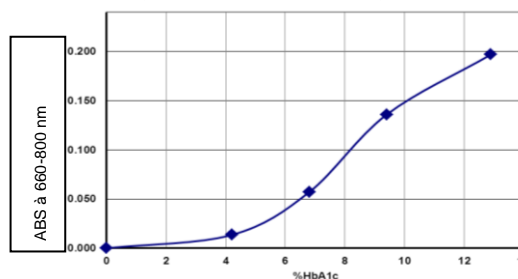
Unité de mesure

L'unité utilisée par défaut pour les résultats du dosage est le % d'HbA1c.

Pour les unités alternatives, des calculs manuels peuvent être effectués en appliquant les équations suivantes :

- NGSP % HbA1c converti en IFCC mmol/mol : $[\% \text{ HbA1c} \times 10,93] - 23,50$
- IFCC mmol/mol converti en NGSP % HbA1c : $[\text{mmol/mol} \times 0,09148] + 2,152$

Les résultats pour l'HbA1c sont calculés à l'aide d'une méthode de réduction des données de type spline permettant de générer une courbe d'étalonnage. L'illustration ci-dessous présente un exemple de courbe :



PLAGE DE MESURE

La plage de mesure analytique du dosage correspond à l'intervalle entre le seuil de sensibilité fonctionnelle du dosage et la concentration (% d'HbA1c) de l'étalon le plus élevé. La plage du dosage Axis-Shield HbA1c est de 4,0 % à 13,0 % (*) d'HbA1c.

(*) Ces valeurs varient selon les valeurs cibles spécifiques au lot d'étalon utilisé et cela doit être pris en compte lors du réglage des limites de la plage du dosage sur l'appareil. La plage indiquée a été établie sur la base des valeurs d'étalons élevés typiques.

Les échantillons dépassant la limite supérieure de la plage de mesure **ne doivent PAS être dilués**. D'autres méthodes doivent être utilisées pour analyser ces échantillons.

VALEURS ATTENDUES

Pour le suivi des patients diabétiques, il est recommandé de définir des objectifs glycémiques personnalisés en suivant les recommandations

actuelles des sociétés professionnelles^{4*}. Un résumé des recommandations de l'Association américaine du diabète (ADA, American Diabetes Association) est présenté dans le tableau ci-dessous.

Valeur de l'HbA1c	Objectif glycémique
< 8 % d'HbA1c (64 mmol/mol)	Moins strict
< 7 % d'HbA1c (53 mmol/mol)	Général (adultes, hors grossesse)
< 6,5 % d'HbA1c (48 mmol/mol)	Plus strict

Selon les recommandations de l'ADA, les patients dont les mesures sont comprises entre 5,7 et 6,4 % d'HbA1c (39 à 46 mmol/mol) entreraient dans la catégorie de risque accru de diabète⁴.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Les hémoglobinopathies peuvent interférer avec l'analyse de l'hémoglobine glyquée. Les variantes courantes de l'hémoglobine ont été testées avec ce dosage. Voir la section Spécificité.
- Il est possible que d'autres substances et/ou facteurs non testés (voir la section Interférences) puissent interférer avec le dosage.
- Ce dosage n'est pas prévu pour :
 - établir le diagnostic de diabète ;
 - être utilisé en remplacement des tests quotidiens à domicile des taux de glucose urinaire et sanguin ;
 - analyser les échantillons issus de patients présentant des taux d'hémoglobine totale < 8 g/dL, car les résultats seraient alors négativement biaisés ;
 - analyser les échantillons issus de patients dont l'état de santé a pour conséquence une réduction de la durée de vie des globules rouges, par exemple en cas d'anémie hémolytique ou autre affection hémolytique, en cas de pertes sanguines aiguës ou chroniques significatives ou en cas de grossesse.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE :

Les données représentatives fournies dans cette section ont été générées en procédant au test sur l'analyseur ADVIA 2400 ; les résultats peuvent différer d'un laboratoire à l'autre.

Les performances obtenues sur d'autres appareils n'ont pas été contrôlées et doivent donc être vérifiées par l'utilisateur.

SENSIBILITÉ FONCTIONNELLE

Une étude a été conduite afin d'évaluer les performances du dosage à de faibles taux d'HbA1c. Trois échantillons de sang total faiblement dosés ont été testés (n = 20) dans le cadre de 3 analyses distinctes à l'aide de 3 lots de réactifs Axis-Shield HbA1c. Les concentrations des échantillons étaient comprises entre 2,9 et 4,6 % d'HbA1c. L'écart type (ET) a été < 0,24 % d'HbA1c pour tous les échantillons.

Le seuil de sensibilité fonctionnelle du dosage Axis-Shield HbA1c est de 4,0 % d'HbA1c.

PRÉCISION DU DOSAGE

L'imprécision totale du dosage a été évaluée dans le cadre d'une étude externe en utilisant des témoins et des échantillons de sang total humain. Tous les échantillons ont été testés en doubles exemplaires (n = 2) à 2 moments distincts de la journée pendant 20 jours à l'aide de 3 lots de réactifs Axis-Shield HbA1c. Les données de performances minimales observées pour les échantillons en utilisant un lot de réactif sont résumées dans le tableau suivant.

Échantillon	n	Moyenne (%)	Imprécision totale	
			ET (% d'HbA1c) (IC à 95 %)	CV % (IC à 95 %)
Témoin bas	80	6,17	0,218 (0,177 – 0,283)	3,5 (2,9 % - 4,6 %)
Témoin haut	80	9,97	0,587 (0,484 – 0,740)	5,9 (4,9 % - 7,5 %)
Sang humain n° 1	80	6,32	0,254 (0,207 – 0,329)	4,0 (3,3 % - 5,2 %)
Sang humain n° 2	80	7,60	0,317 (0,273 – 0,378)	4,2 (3,6 % - 5,0 %)
Sang humain n° 3	80	8,57	0,366 (0,313 – 0,441)	4,3 (3,6 % - 5,1 %)

LINÉARITÉ

Une étude de linéarité a été réalisée en procédant à une série de dilutions d'un échantillon à haut % d'HbA1c à l'aide d'un échantillon à bas % d'HbA1c. Les tests ont été réalisés en utilisant 3 lots de réactifs Axis-Shield HbA1c. La linéarité du dosage Axis-Shield HbA1c a été démontrée entre 5,5 et 11,0 % d'HbA1c.

COMPARAISON DES MÉTHODES

Une étude de corrélation a été réalisée en utilisant des échantillons de sang total humain sur la plage de mesure du dosage. Les échantillons ont été analysés en utilisant 3 lots de réactifs Axis-Shield HbA1c et deux dosages de l'HbA1c disponibles dans le commerce (un immunodosage et un dosage par électrophorèse capillaire). Les échantillons ont été évalués en appliquant la méthode de régression de Passing-Bablok et la corrélation a été évaluée à l'aide du modèle de régression (r) de Pearson. Les résultats obtenus ont été les suivants :

• Comparaison avec la méthode d'immunodosage

Lot	Plage de l'échantillon (% d'HbA1c)	n	Coefficient de corrélation (r)	Pente (IC à 95 %)	Point d'intersection (IC à 95 %)
1	4,2 % - 12,6 %	154	0,968	0,99 (0,96 – 1,02)	0,76 (0,58 – 0,95)
2	4,2 % - 12,6 %	154	0,968	0,94 (0,91 – 0,99)	1,00 (0,72 – 1,27)
3	4,2 % - 12,6 %	154	0,976	0,98 (0,95 – 1,02)	0,77 (0,52 – 0,99)

• Comparaison avec la méthode d'électrophorèse capillaire

Lot	Plage de l'échantillon (% d'HbA1c)	n	Coefficient de corrélation (r)	Pente (IC à 95 %)	Point d'intersection (IC à 95 %)
1	4,4 % - 13,0 %	157	0,973	0,95 (0,92 – 0,98)	0,45 (0,25 – 0,66)
2	4,4 % - 13,0 %	158	0,964	0,92 (0,88 – 0,96)	0,59 (0,28 – 0,91)
3	4,4 % - 13,0 %	158	0,976	0,94 (0,90 – 0,98)	0,54 (0,27 – 0,80)

INTERFÉRENCES

Les composés indiqués ci-dessous ont été introduits dans deux échantillons de sang total humain présentant des taux d'HbA1c différents (6-7 % et 8-9 % d'HbA1c) afin d'évaluer les interférences potentielles avec le dosage par comparaison avec des échantillons de référence.

Aux taux indiqués, aucune des substances n'a entraîné d'interférence avec le dosage Axis-Shield HbA1c, telle que définie par un écart de concentration < ± 10 % :

Substance potentiellement interférente	Taux maximal testé sans interférence observée
Bilirubine (conjuguée & non conjuguée)	38 mg/dL
Triglycérides	1 000 mg/dL
Facteur rhumatoïde	600 U/mL
Protéines totales	14 g/dL
Acide ascorbique	50 mg/dL

La prudence est de rigueur lors de l'analyse d'échantillons issus de patients ayant reçu des préparations à base d'anticorps monoclonaux de souris à des fins de diagnostic ou de traitement car ces échantillons pourraient contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). Les échantillons contenant des HAMA peuvent donner des résultats inattendus lorsqu'ils sont analysés avec ce dosage, comme avec tout dosage recourant à des anticorps de souris.⁵

SPÉCIFICITÉ

Dérivés de l'hémoglobine (Hb)

Les fractions labiles de l'Hb, l'Hb acétylée et l'Hb carbamylée n'interfèrent pas avec ce dosage.

Deux échantillons de sang total humain présentant des concentrations d'HbA1c de 6-7 % et 8-9 % d'HbA1c ont été testés en présence de cyanate de sodium, d'acétylsalicylate, de glucose et d'urée à des concentrations physiologiques ou aux concentrations recommandées pour le test et aucun biais n'a été rapporté, tel que défini par un écart de concentration maximal < ± 10 % par comparaison avec les échantillons de référence.

Variantes de l'hémoglobine

Les variantes suivantes n'interfèrent pas avec le dosage : HbS, HbC, HbD, HbA2, HbE et HbF. Les autres variantes n'ont pas été testées dans le cadre de ce dosage.

Par principe, il convient de procéder avec prudence lors de l'interprétation des taux d'HbA1c mesurés chez des patients présentant des concentrations élevées de variantes de l'Hb.

BIBLIOGRAPHIE

1. 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 Eng J Med* 1993;329(14):977-86
2. Lester E. The clinical value of glycated haemoglobin and glycated plasma proteins. *Ann Clin Biochem* 1989;26: 213-9.
3. Goldstein DE, Little RR, Weidmeyer H-M, *et al.* Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 1986; 32(10):B64-B70.
4. American Diabetes Association. Position Statement: Standards of Medical Care in Diabetes - 2012. In: *Diabetes Care* 2012;35 (Suppl 1):S11-S63.
5. Primus FJ, Kelley EA, Hansen HJ, *et al.* "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem* 1988;34(2):261-264.

PROCÉDURE ANALYTIQUE TYPE

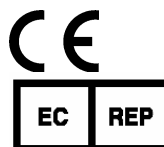
Volume de sang total lysé :	4 µL
Volume de réactif 1 :	150 µL
Temps d'incubation :	5 minutes
Volume de réactif 2 :	60 µL
Temps d'incubation :	5 minutes
Lecture des 1 ^{ers} résultats :	20 secondes (15-25 secondes)
Lecture des 2 ^{nds} résultats :	300 secondes (270-330 secondes)
Longueur d'onde :	660 nm (640-680 nm)
Température :	+ 37 °C
Type de réaction :	Point final
Type de calcul :	Spline
Modèle d'étalonnage :	Multipoint

Se reporter au mode d'emploi spécifique à l'appareil pour connaître les instructions de programmation de l'appareil.

REF	Code produit
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
LOT	Numéro de lot
	Nombre de tests
	Consulter le mode d'emploi
	Fabricant
GTIN	Numéro d'article commercial global
	À utiliser avant
	Conserver entre 2 et 8 °C
	ATTENTION
REAG 1	Réactif 1
REAG 2	Réactif 2
LYSIS DILUENT	Diluant de lyse



Axis-Shield Diagnostics Ltd.,
The Technology Park,
Dundee, DD2 1XA
United Kingdom
Tél : +44 (0) 1382 422000
Fax : +44 (0) 1382 422088



EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)
Schiffgraben 41,
30175 Hannover,
Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630
Fax: + (49) 511 6262 8633

RPBL1087/R3
Version 2019/09