

グリコヘモグロビンA_{1c}キット

フレックスカートリッジ ヘモグロビンA1CⅡ IFCC

この添付文書をよく読んでから使用ください。

【 全般的な注意 】

- 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
- 本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状その他関連する他の検査結果等を考慮して総合的に判断ください。
- 添付文書に記載されている以外の使用方法については保証しません。
- 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用ください。
- 標準液には、ヒト由来成分が含まれており、感染の危険がありますので感染性のあるものとして取り扱ってください。

【 形状・構造等(キットの構成) 】

構成試薬名	ウェル* ¹	形状	成分
第一試薬* ²	1,2	液状	抗ヘモグロビンA _{1c} ヒツジポリクローナル抗体
第二試薬	3	液状	ポリハプテン
第三試薬	5,6	液状	テトラデシルトリメチルアンモニウムブロマイド (TTAB：溶血試薬)

- ※ 1 試薬封入部をウェルと呼び、カートリッジの幅の広い方より 1 から順番に番号付けしています。
- ※ 2 抗体価と共役活性はロットごとに異なります。

試薬カートリッジとは別に次の標準液が本品に含まれています。

標準液	形状	成分
標準液レベル1	凍結乾燥品	全血溶血物、ヘモグロビンA _{1c} 及び総ヘモグロビン
標準液レベル2		
標準液レベル3		
標準液レベル4		
標準液レベル5		

- 注意)
- 本品は試薬カートリッジと標準液をロットごとに組み合わせて構成しています。異なるロットと組み合わせての使用はできません。

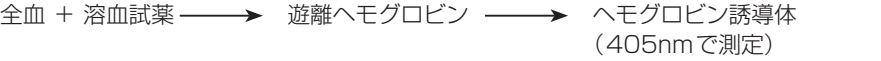
【 使用目的 】

全血中のヘモグロビンA_{1c} (HbA_{1c}) の測定

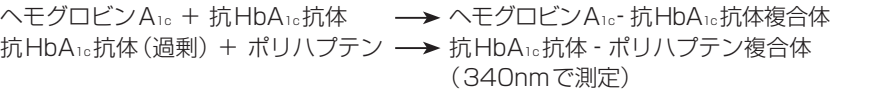
【 測定原理 】

本法はヘモグロビンA_{1c} (HbA_{1c}) と総ヘモグロビンの両者を測定するもので、HbA_{1c}の測定は免疫阻害比濁法 (TINIA)、総ヘモグロビンの測定はアルカリヘマチン反応の変法に基づいています。2つの測定結果より、総ヘモグロビンに対する糖化ヘモグロビンの百分率が計算され、報告されます。アマドリ転移型のHbA_{1c}のみが検出されるので、不安定型を除去する前処理は不要です。本法では、β鎖N末端が糖化され、かつHbA_{1c}と同一のエピトープを持つすべてのヘモグロビン変異体が測定されます。

総ヘモグロビンの測定：溶血試薬の入った第一反応キュベットに全血検体を添加します。この試薬により赤血球が崩壊し、遊離したヘモグロビンが特有の吸収スペクトルを持つ誘導体に変化します。この溶血検体が第一反応キュベットから第二反応キュベットに移され、405nm及び700nmで総ヘモグロビン濃度が測定されます¹⁾。



HbA_{1c}の測定：総ヘモグロビンの測定で第一反応キュベットから第二反応キュベットへ移された同一の溶血検体がHbA_{1c}の測定にも使用されます。第二反応キュベットには抗ヘモグロビンA1cヒツジポリクローナル抗体(抗HbA_{1c}抗体)を含む緩衝液が入っています。検体中のHbA_{1c}は抗HbA_{1c}抗体と反応して可溶性の抗原抗体複合体を形成します。次に複数のHbA_{1c}エピトープを持つポリハプテンをこのキュベットに添加します。ポリハプテンは過剰な(遊離)抗HbA_{1c}抗体と反応して不溶性の抗体ポリハプテン複合体を形成します。この反応で生じる濁度を340nm(ブランク：700nm)で測定します。濁度の増加は、検体中のHbA_{1c}濃度に反比例します。



【 操作上の注意 】

1. 測定試料の性質、採取法
 - 抗凝固処理された静脈全血 (EDTA-2カリウム、EDTA-3カリウム、フッ化ナトリウム/エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム(2水和物)、ヘパリンリチウム又はフッ化ナトリウム又はカリウム-シュウ酸) を使用ください。
 - 検体は、静脈穿刺による推奨方法で採血ください²⁻⁴⁾。検体採取に用いる器具の使用及び操作については、使用説明書に従ってください³⁾。
 - 検体はサンプルカップ又はSSC (マイクロインサート) でのみ測定が可能です。

- 検体を採血管から直接測定することはできません。
- 検体はサンプルカップ又はSSCに移す前に、穏やかに10回転倒させるか、あるいはロッカーミキサーを用いて、赤血球が均一に分布するように混和ください。その際、泡立たないように注意ください。
- 血餅などの凝集塊を含む検体は使用しないでください。
- サンプルカップ又はSSCには200 μLの全血を分注ください。
- 装置に装填されたサンプルカップ中の検体は、1時間まで安定です。
- 検体は、15～25℃で3日間、2～8℃で7日間、－20℃で4ヶ月間安定です。検体の凍結は1回までとし、再凍結は避けてください。
- 検体の保存条件は参考としてください。各施設で検証を行った結果に基づき検体保存手順を設定している場合は、それに従ってください。

2. 妨害物質・妨害薬剤
 - 糖質以外の多くの物質がヘモグロビンと凝集して測定結果に影響を及ぼし、誤った結果となることがあります。例としては、アヘン中毒者⁵⁾、鉛中毒、アルコール中毒⁶⁾が挙げられます。
 - 本法に使用されている抗体試薬は、β鎖N末端に糖が結合していて、HbA_{1c}と同じエピトープ(アミノ酸配列：VAL-HIS-LEU-THR)を持つ、糖化ヘモグロビン変異体を測定します。これにはHbS、HbC、HbD、HbEなどが含まれます。その他の異常ヘモグロビン症も本法に誤差を与えます。ヘモグロビン変異体を持つ患者のHbA_{1c}結果は、注意して診断ください。
 - 異常ヘモグロビンは赤血球の半減期又は生体内糖化率に影響を及ぼします。この場合、分析上は正確であっても、測定値は、正常なヘモグロビンを持つ患者で期待されるレベルと同レベルの血糖コントロール値を反映しません⁷⁾。
 - 本法に用いられている抗HbA_{1c}抗体と、HbAQ、HbA1a、HbA1b、アセチル化ヘモグロビン、カルバミル化ヘモグロビン、グリコアルブミン、不安定ヘモグロビンとの交差反応は認められませんでした。
 - 糖化HbF (胎児ヘモグロビン) は2本のα鎖及び2本のγ鎖で構成されており、β鎖がないため抗HbA_{1c}抗体によって認識されません。HbFが10%を超える高値の患者は、通常、幼児やベータサラセミア患者で認められ、本法では期待される値よりも低値となる場合があります。このような検体は別の方法で測定ください。

ヘモグロビン変異体

本品に対するヘモグロビン変異体の影響についてCLSI EP07-A2に従い測定しました⁸⁾。HbC、HbD、HbE、HbS及びHbA2については本法への妨害は認められませんでした。HbFのみ妨害が認められました。

NGSP

*	HbA _{1c} 以外の分画	N	HbA _{1c} 以外の分画の分布範囲 (%)	HbA _{1c} 分画の分布範囲 (%)	バイアス (%)	バイアス (%)
					～ 6% HbA _{1c}	～ 9% HbA _{1c}
	HbC	37	26.1～40.0	4.4～15.7	-1.0% (-5.0～4.9%)	-0.9% (-4.6～4.4%)
	HbD	20	24.8～38.4	5.0～13.0	-2.2% (-4.9～4.4%)	-2.5% (-4.4～-1.3%)
	HbE	22	19.7～30.4	4.7～11.0	-2.1% (-4.9～3.1%)	-2.5% (-4.3～-1.0%)
	HbS	22	27.5～36.3	5.3～14.0	-1.3% (-4.7～4.9%)	-2.0% (-4.9～3.5%)
	HbA2	23	4.3～6.2	5.1～8.4	0.1% (-4.8～3.6%)	-2.0% (-3.0～-1.1%)
	HbF	20	4.3～29.3	4.3～10.1	-23.2% (-30.3～1.2%)	-24.7% (-25.8～-23.3%)

IFCC	HbA _{1c} 以外の分画	N	HbA _{1c} 以外の分画の分布範囲 (%)	HbA _{1c} の分布範囲 (mmol/mol)	バイアス (%)	バイアス (%)
					HbA _{1c} 濃度 ～ 42mmol/mol	HbA _{1c} 濃度 ～ 75mmol/mol
	HbC	37	26.1～40.0	25～148	-1.4% (-8.2～8.2%)	-1.2% (-5.7～6.2%)
	HbD	20	24.8～38.4	31～119	-3.5% (-8.1～7.1%)	-3.4% (-5.2～-1.8%)
	HbE	22	19.7～30.4	28～97	-3.4% (-8.2～5.2%)	-3.3% (-6.2～-1.3%)
	HbS	22	27.5～36.3	34～130	-2.0% (-7.6～7.6%)	-2.6% (-6.3～4.1%)
	HbA2	23	4.3～6.2	32～68	0.2% (-8.3～6.1%)	-2.7% (-4.1～-1.6%)
	HbF	20	4.3～29.3	23～87	-37.0% (-48.6～2.0%)	-32.7% (-36.3～-30.8%)

バイアス (%) =

%HbA_{1c}測定平均値

－ %HbA_{1c}平均期待値

%HbA_{1c}平均期待値

× 100

ヘモグロビン誘導体

本品に対するヘモグロビン誘導体(アセチル化ヘモグロビン、カルバミル化ヘモグロビン、不安定ヘモグロビン及びヘモグロビン断片)の影響についてCLSI EP07-A2に従い測定しました⁸⁾。HbA_{1c}濃度5.0%±1.0%、6.5%±1.0%及び8.0%±1.0%における、これらの物質による系統誤差は5%以下(31mmol/mol±11mmol/mol、48mmol/mol±11mmol/mol及び64mmol/mol±11mmol/molにおける系統誤差は9%以下)です。

- アセチル化ヘモグロビン：50mg/dL (2.8mmol/L) 以上のアセチルサリチル酸
- カルバミル化ヘモグロビン：10mmol/L以上のシアン
- 不安定ヘモグロビン：1500mg/dL (83.3mmol/L) のグルコース

妨害物質

- CLSI EP07-A2に従い測定しました⁸⁾。

- 全血中に以下の物質が存在しても、記載の濃度までは本法を妨害しません。
HbA_{1c}濃 度 6.5% ± 1.0% 及 び 8.0% ± 1.0% (8.0%以下) (48mmol/mol ± 11mmol/mol 及び 64mmol/mol ± 11mmol/mol のとき8%以下) における、これらの物質による系統誤差は5%以下です。

物質	濃度 (慣用単位)	濃度 (SI単位)
アセトアミノフェン	20mg/dL	1323.1 μmol/L
アセチルサリチル酸	100mg/dL	5.6mmol/L
アンピシリン	100mg/dL	2865.3 μmol/L
アスコルビン酸	30mg/dL	1704.5 μmol/L
ドベシル酸カルシウム水和物	20mg/dL	783 μmol/L
抱合型ビリルビン	66mg/dL	1129 μmol/L
非抱合型ビリルビン	66mg/dL	956 μmol/L
セフォキシチンナトリウム	250mg/dL	5563 μmol/L
コレステロール	503mg/dL	13.8 μmol/L
シクロスポリン	1.66mg/dL	13mmol/L
ドキシサイクリンヒクレート	5mg/dL	112.4 μmol/L
グルコース	2000mg/dL	111mmol/L
ヘパリン	5U/mL	5000U/L
イブプロフェン	50mg/dL	2427.2 μmol/L
インスリン	593 μU/mL	593mU/L
イントラリビッド	1000mg/dL	11.3mmol/L
レボドパ	2mg/dL	101 μmol/L
メトホルミン	4mg/dL	310.1 μmol/L
メチルドパ	2mg/dL	94.8 μmol/L
メトロニダゾール	20mg/dL	1169.6 μmol/L
Nアセチルシステイン	166.3mg/dL	10.2mmol/L
フェニルブタゾン	40mg/dL	1297 μmol/L
総タンパク	22g/dL	220g/L
リウマトイド因子	750IU/mL	750IU/mL
リファンピシン	6mg/dL	73 μmol/L
ロシグリタゾン	0.8mg/dL	22mmol/L
サリチル酸	60mg/dL	4.3mmol/L
テオフィリン	10mg/dL	555.6 μmol/L
トリグリセライド	600mg/dL	6.8mmol/L

3. その他
本品はディスクリート方式臨床化学自動分析装置 ディメンション シリーズの専用試薬です。

【用法・用量】

1. 試薬の調製法
カートリッジ内の試薬はすべて液状のため調製する必要はありません。そのまま使用ください。
標準液の調製
(1)冷蔵庫から各バイアルを取り出し、続けて次の操作を行います。
(2)内容物が飛散しないように注意して、蓋を取り外します。
(3)2.00 ± 0.01mLの精製水を加えます。精製水は室温(22 ～ 28℃)に戻したものを使用ください。汚染を防ぐため、溶解に使用した容器の水は、機器には使用しないでください。
(4)蓋をして5分間放置します。この間にバイアルを転倒混和しないでください。
(5)バイアルを30秒間穏やかに旋回した後、泡が立たないように穏やかに10回転倒混和します。
(6)30分間放置した後、穏やかに10回転倒混和します。
2. 必要な器具・器材・試料等
- ディスクリート方式臨床化学自動分析装置 ディメンション シリーズ
- その他の必要な器具・器材等についてはディメンション・オペレーターマニュアルを参照ください。
3. 測定法
- (1)本品と検体を専用のディスクリート方式臨床化学自動分析装置 ディメンション シリーズの所定位置に装填します。サンプルカップにはサンプルブローブが適切に再混和できるよう200 μLの全血を分注ください。
- (2)第三試薬(300 μL) 及び検体(3 μL) が第一反応キュベットに分注混和されると検体中の赤血球が溶解し、ヘモグロビンが2波長(405及び700nm)で測定されます。
- (3)第一試薬(320 μL)、(2)の反応液(19 μL)、及び第二試薬(52 μL) が第二反応キュベットに分注混和され、37℃で所定時間反応が行われた後、HbA_{1c}濃度が2波長(340及び700nm)で測定されます。
- (4)上記と同様に操作して測定された標準液の吸光度より作成された標準曲線を用いて検体中の総ヘモグロビン濃度(g/dL) 及びHbA_{1c}濃度(%) が求められます。
4. 較正
- 一般的な較正手順はディメンション・オペレーターマニュアルに記載されています。本法の較正を行う場合、以下を考慮の上実施ください。
- 較正物質 : 本品に同梱されている標準液を使用ください。
- 推奨較正物質濃度 : ヘモグロビン 5.0 ～ 25.0g/dL (3.1 ～ 15.5mmol/L)
HbA_{1c} 0.25 ～ 2.90g/dL (0.16 ～ 1.80mmol/L)
注意) 当社標準液を使用の際は、当該製品の使用説明書に記載されている数値を使用ください。
- 測定回数 : ヘモグロビン 2濃度 各5重測定
HbA_{1c} 5濃度 各5重測定
- 較正頻度 : 30日ごとに必ず較正を行ってください。
- 較正が必要な場合 : ・試薬カートリッジのロットを変更する場合
・点検又は修理後の精度管理の結果により必要と思われる場合
・各施設における精度管理方法に基づき必要とされる場合
・行政により求められた場合

指数係数 : C₀:145.6 C₁: -147.5 C₂: -1.60
C₃: 1.00 C₄: 0.5
キャリブレーションに用いるカップには600 μLの標準液を分注ください。

本法では、次の較正及び報告方法が可能です。

- (1)NGSP標準化HbA_{1c}濃度

•HbA_{1c}濃度(%)が次式より算出され、報告されます。

$$\text{HbA}_{1c}\text{濃度}(\%) = 100 \times \frac{\text{HbA}_{1c}\text{濃度}(\text{g/dL})}{\text{総ヘモグロビン濃度}(\text{g/dL})}$$

- HbA_{1c}濃度及び総ヘモグロビン濃度を求めるためには、標準液の表示値(g/dL)が必要です。表示値は、標準液用の使用説明書に記載されています。
 - 次いで、NGSP標準化HbA_{1c}濃度(%)が次式より算出されます。次式で求められるHbA_{1c}濃度(%)は、Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)の研究結果に基づき標準化された値で、この値が結果出力用紙に印字されます。次式中の係数b、c、dは試薬カートリッジのロット毎に異なります。
NGSP標準化HbA_{1c}濃度(%) = [b × (HbA_{1c}濃度(%))²] + (c × HbA_{1c}濃度(%)) + d
本品の各ロットは、設定された規格に適合するよう管理された条件の下で製造されています。
- 年1回、ディスクリート方式臨床化学自動分析装置 ディメンション シリーズで1ロットを用いてNGSP標準化を確認します。NGSP認証書に関する詳細は、ホームページ(www.ngsp.org)を参照ください。

- (2)IFCC標準化HbA_{1c}濃度

•HbA_{1c}濃度(mmol/mol)が次式より算出され、報告されます。

$$\text{HbA}_{1c}\text{濃度}(\text{mmol/mol}) = 1000 \times \frac{\text{HbA}_{1c}\text{濃度}(\text{mmol/L})}{\text{総ヘモグロビン濃度}(\text{mmol/L})}$$

- HbA_{1c}濃度及び総ヘモグロビン濃度を求めるためには、標準液の表示値(mmol/L)が必要です。表示値は、標準液用の使用説明書に記載されています。
- 次いで、IFCC標準化HbA_{1c}濃度(mmol/mol)が次式より算出されます。次式中の係数b、c、dは試薬カートリッジのロット毎に異なります。
IFCC標準化HbA_{1c}濃度(mmol/mol) = [b × (HbA_{1c}濃度(mmol/mol))²] + (c × HbA_{1c}濃度(mmol/mol)) + d

較正值の許容範囲

較正後は次の較正のガイドラインを参照して、測定値が基準値に合っているか確認ください。

Data	許容範囲	説明
Hemoglobin A _{1c} (A _{1c}) 傾き (m)	0.95 ～ 1.05	N/A
Hemoglobin A _{1c} (A _{1c}) y切片 (b)	0に近い	測定値に直接加減される値として臨床的には影響ないこと
Hemoglobin (HB BV) 精度 (g/dL [mmol/L])	平均値 ± 10%	5つの結果の平均値をHB BV データと比較
Hemoglobin (HB BV) SD (g/dL [mmol/L])	≤ 0.8 (0.5)	N/A
EX 再現性係数 SD 許容限界	<0.4 (0.6)	EX較正係数の計算に使用される総ヘモグロビンのミリ吸光値の精度

5. 精度管理

精度管理の頻度については、行政当局の規制や許可条件に従ってください。
既知濃度の精度管理物質を少なくとも1日1回、2濃度測定ください。測定結果が許容範囲外の場合は、各施設の手順に従い対処ください。
ディメンション・オペレーターマニュアルに書かれている計算式を使って総ヘモグロビン濃度及びHbA_{1c}濃度を自動的に計算します。
本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状その他関連する他の検査結果等を考慮して総合的に判断ください。
5重測定の再現性の結果が以下の場合は、何らかの異常の可能性があります。

濃度	S.D.
5.5% (37mmol/mol)	> 0.2% (1.6mmol/mol)
9.6% (81mmol/mol)	> 0.3% (4.3mmol/mol)

サンプルカップには200 μLの検体を分注ください。

【測定結果の判定法】

1. 基準範囲

HbA_{1c}の参考基準範囲は下表のとおりです¹⁰⁾。

示唆される診断結果	HbA _{1c} (%)	HbA _{1c} (mmol/mol)
糖尿病	≥ 6.5	≥ 48
糖尿病予備軍	5.7 ～ 6.4	39 ～ 47
健常者	< 5.7	< 39

健常者のHbA_{1c}濃度は、母集団内でばらつきがあります。各検査室は基準範囲を検証し、必要に応じて独自の基準範囲を設定ください。
HbA_{1c}の測定頻度は患者の症状、治療方針及び医師の判断によります。米国糖尿病協会(ADA)は妊娠中でない成人について、HbA_{1c}濃度7%未満が妥当であると推奨しています。ただし、糖尿病、あるいは軽度の低血糖症や様々な共存症のリスクを伴う患者の場合は、そこまで厳密な値でなくても問題ないとされています¹¹⁾。

2. システム内の計算アプリケーション

HB1C1: このアプリケーションは、システム内に保存された測定値(%又はmmol/mol)をIFCCのHbA_{1c}小委員会で検証された次式に示すIFCC-NGSP“マスター方程式”に基づき、HbA_{1c}測定値をmmol/molから%へ、又は%からmmol/molへ変換します^{12,13)}。

IFCC → NGSP: HbA_{1c}(%) = 0.09148 × (HbA_{1c}(mmol/mol)) + 2.152%
NGSP → IFCC: HbA_{1c}(mmol/mol) = 10.93 × (HbA_{1c}(%)) – 23.50mmol/mol
上記計算結果は、結果出力用紙上の各患者検体測定値の下に印字されます。詳細は、ディメンション・オペレーターマニュアルを参照ください。

3. 判定上の注意

- 臨床的所見と検査結果に大きな相違がある場合は、検討が必要です。例えば溶血性貧血又は他の溶血性疾患、妊娠、大量失血など、何らかの原因により赤血球の寿命が短縮すると、赤血球とグルコースの反応が減少し、その結果HbA_{1c}値が低下します。慢性的な失血のため赤血球寿命が変化している患者のHbA_{1c}値は正確ではありません^{6-7, 14-15}。
- 注意：
本品には胎児ヘモグロビン(HbF)による明らかな妨害が認められます。HbFを含む検体では実際の値よりHbA_{1c}値が低下します。胎児ヘモグロビンが遺伝的に継承される患者ではHbF量が異常に多くなり、HbA_{1c}値が無効になります。HbF変異体に関する情報については妨害物質・妨害薬剤を参照ください。
- 精度の測定にHbA_{1c}キャリブレータを使用しないでください。
- 各施設の手順によって臨床所見には大きな相違があり、通常は測定結果を調査する必要があります。以下の判定上の注意のいくつかを考慮してください。
- 本品はmmol/mol HbA_{1c} (IFCC) 及び%HbA_{1c} (DCCT/NGSP)について正確に計測できるように設計されています。総ヘモグロビン濃度及びHbA_{1c}濃度について、個々の測定結果は報告されません。
- 本品においてヘモグロビン濃度が測定範囲外となる患者検体の場合、測定には別の方法を使用ください。
- 本品は妊婦の糖尿病の診断には使用できません。HbA_{1c}は過去3カ月にわたる(赤血球の平均寿命)平均血糖値に影響を受けるため、妊娠中又は最近の高血糖症の発症や生存する赤血球数の低下などによりHbA_{1c}値が偽低値になることがあります。
- 本品は以下の場合には糖尿病患者の診断や診察に使用しないでください。
異常ヘモグロビン症(鎌状赤血球貧血などの症状が見られない場合)、異常な赤血球細胞のターンオーバー(溶血性貧血や鉄欠乏性貧血)、悪性腫瘍及び重度で慢性的な肝臓や腎臓に疾患がある場合。
- 1型糖尿病が急速に進行している場合、血糖値の急な増加に対してHbA_{1c}値の増加が遅れる場合があります。この場合、糖尿病の診断は、血漿中の血糖値や典型的な臨床症状を元に行ってください。

- **
- 1型糖尿病患者、小児患者、又は妊娠中の患者に対する血糖検査の代用としてHbA_{1c}測定を使用しないでください。

4. 測定限界

- 結果：総ヘモグロビン濃度25g/dL(15.5mmol/L)又はHbA_{1c}濃度2.90g/dL(1.80mmol/L)を超えた場合には、“測定範囲超”と表示されますので、検体を希釈ください。
計算された%HbA_{1c}濃度が14.0%(130mmol/mol)を超えた場合には、“測定範囲超”と表示されますので、“>14.0%(130mmol/mol)”と報告ください。
- 希釈方法：精製水1容量に対し全血1容量を混合し、測定結果が測定範囲に収まるように希釈ください。次いで再測定ください。
注意)出力された結果(Hb1C(%)(mmol/mol))が最終報告結果です。結果は、HbA_{1c}と総ヘモグロビンの比に基づき計算されるため、希釈係数で補正しないでください。
- 自動希釈法：本法では使用できません。
- 結果がHbA_{1c}濃度3.8%(18mmol/mol)未満、総ヘモグロビン濃度5.0g/dL(3.1mmol/L)又はHbA_{1c}濃度0.25g/dL(0.16mmol/L)未満の場合、“測定範囲未満”と表示されます。新しい全血200μLを加えて検体を再調製ください。“測定範囲未満”のメッセージが解消しない場合は、当社に連絡ください。

5. エラーメッセージ

機器のプロセスエラーやステータス情報、及び測定結果エラーが、フラッグとコメントで表示されます。表示されたフラッグ及びコメントの詳細はディメンション・オペレーターマニュアルを参照ください。メッセージの内容が解決されるまで結果出力用紙を破棄せず、各施設の手順に従い処理し、測定結果は報告しないでください。

【臨床的意義】

HbA_{1c}の測定は、糖尿病患者の長期にわたる血糖管理のモニタリングに有用です。HbA_{1c}はグルコースとヘモグロビンA1との非酵素的反応産物です。グルコースはヒト赤血球を自由に透過し、ヘモグロビンと非酵素的に結合してHbA_{1c}を形成することができます。ヘモグロビンβ鎖N末端のバリンのα-アミノ基とグルコースとの間でこの非酵素的反応が生じると、不安定なアルジミン又はシッフ塩基中間体(不安定型)が形成されます。この反応は緩徐で可逆的であり、その速度は血中のグルコース濃度に比例します。中間物質のアルジミンは、さらに不可逆性のアマドリ転位を受けて、安定したケトアミン1-グルコフルトバリン化合物となります。この反応は反応物濃度により促進されるため、総ヘモグロビンに対するHbA_{1c}率として報告されるグリコシル化は、赤血球内のヘモグロビン血流寿命(約120日)に関わる平均血中グルコース濃度に比例します^{16, 17}。

HbA_{1c}測定の有用性は、Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)¹⁸で立証されました。この研究の重要な成果は、血糖コントロールと長期的合併症の発症と進展に直接の相関が認められたことです。血糖コントロールの改善、すなわちHbA_{1c}の低下が見られた患者では、神経障害、網膜症、腎障害といった微小血管合併症に関して予後に顕著な改善が見られました¹⁸。

【性能】

1. 性能
- | | |
|----------|--|
| (1)感度 | ヘモグロビンA _{1c} 濃度0g/dLと約2.62g/dLの標準液の吸光度変化量の差は、66mAU以上です。 |
| (2)正確性 | 濃度既知管理用検体を測定するとき、その測定値は表示値の±15%以内です。 |
| (3)同時再現性 | 濃度既知管理用検体を各々複数回同時に測定するとき、その変動係数(CV)は10%以下です。 |
| (4)測定範囲 | 総ヘモグロビン：5.0～25.0g/dL(3.1～15.5mmol/L) |

HbA_{1c}：0.25～2.90g/dL(0.16～1.80mmol/L)
HbA_{1c}(%)：3.8～14.0%(18～130mmol/mol)
総ヘモグロビン及びHbA_{1c}は、検体を直接測定した時の濃度範囲です。希釈や通常操作にない前処理はしていません。これらのいずれかの結果が測定範囲外の場合、結果はHbA_{1c}(%)の結果と共に表示されます。
HbA_{1c}(%)の測定範囲は、加工していないヒト全血を用いて検証しました。必要に応じて、各施設で測定範囲の検証に使用ください。

2. 精密性

精密性の検討は、CLSI EP05-A3に従って実施しました¹⁹。機器3台、試薬3ロットを用いて1日2回(最低でも2時間おきに)20日間測定を行いました。NGSP標準化HbA_{1c}値(%HbA_{1c})

試料	N	平均値 (%)	再現性		施設内	
			SD ^{*1}	CV (%) ^{*2}	SD ^{*1}	CV (%) ^{*2}
精度管理物質1	720	5.2	0.05	1.0	0.13	2.6
精度管理物質2	720	9.5	0.08	0.8	0.16	1.7
プール全血1	720	5.3	0.05	0.9	0.13	2.4
プール全血2	720	6.4	0.05	0.7	0.11	1.7
プール全血3	720	7.8	0.06	0.8	0.13	1.6
プール全血4	720	11.9	0.09	0.8	0.22	1.8

IFCC標準化HbA_{1c}値(mmol/mol)

試料	N	平均値 (%)	再現性		施設内	
			SD ^{*1}	CV (%) ^{*2}	SD ^{*1}	CV (%) ^{*2}
精度管理物質1	720	34	0.56	1.7	1.47	4.4
精度管理物質2	720	81	0.87	1.1	1.73	2.2
プール全血1	720	35	0.54	1.5	1.42	4.1
プール全血2	720	47	0.52	1.1	1.17	2.5
プール全血3	720	62	0.68	1.1	1.41	2.3
プール全血4	720	107	0.99	0.9	2.41	2.3

※1:標準偏差

※2:変動係数

3. 相関性

CLSI EP09-A3に従って実施しました²⁰。本品(y)とNGSP標準化測定法(HPLC)(x)との相関性は以下のとおりです。

Passing-Bablok回帰

単位	N	検体濃度範囲	傾き	95%信頼区間	Y切片	95%信頼区間
%HbA _{1c}	147	4.5～13.2	0.983	0.966～1.001	0.030	-0.095～0.144
mmol/mol	147	26～121	0.973	0.955～0.992	0.437	-0.474～1.450

Passing-Bablok Bias Estimation

%HbA _{1c}	Bias	%Bias
5.00	-0.05	-1.10
6.50	-0.08	-1.24
8.00	-0.11	-1.33
12.00	-0.17	-1.45

Passing-Bablok Total Error Summary

%HbA _{1c}	%Bias	%CV	%Total Error
5.0	-1.10	2.4	5.8
6.5	-1.24	1.7	4.5
8.0	-1.33	1.6	4.4
12.0	-1.45	1.8	4.9

Deming 回帰

単位	N	検体濃度範囲	傾き	95%信頼区間	Y切片	95%信頼区間
%HbA _{1c}	147	4.5～13.2	0.978	0.957～1.000	0.052	-0.094～0.198
mmol/mol	147	26～121	0.970	0.948～0.992	0.532	-0.603～1.666

Deming Bias Estimation

%HbA _{1c}	Bias	%Bias
5.00	-0.06	-1.16
6.50	-0.09	-1.40
8.00	-0.12	-1.55
12.00	-0.21	-1.77

Deming Total Error Summary

%HbA _{1c}	%Bias	%CV	%Total Error
5.0	-1.16	2.4	5.8
6.5	-1.40	1.7	4.7
8.0	-1.55	1.6	4.6
12.0	-1.77	1.8	5.2

NGSPで採用されているBland-Altman分析を用いて評価しました²¹。本法とNGSP network法(Tosho HPLC)間の平均値差及びHbA_{1c}濃度4～10%における差の95%信頼区間は次のとおりです。本法及びNGSP network法より得られた各検体のHbA_{1c}値の差の95%は、95%信頼区間内に入ります。

比較法	平均値差 (%)	95%信頼区間 (%)		検体濃度範囲	N
		下限	上限		
NGSP (HPLC)	-0.10	-0.37	0.17	4.5～10.0 (%)	132
IFCC (HPLC)	-1.0	-4.0	1.9	26～86mmol/mol	132

抗凝固剤の比較

CLSI EP09-A3に従って5種の抗凝固剤の同等性を測定しました²⁰。試薬1ロットを用いて、4種の抗凝固剤(EDTA-3K、フッ化Na/2Na EDTA、ヘパリンリチウム及びフッ化ナトリウム/シュウ酸カリウム)の各複製及びEDTA-2K検体を比較しました。

Passing-Bablok回帰：NGSP (%)

抗凝固剤	比較検体 (x)	傾き	95% CI	Y切片	95% CI
EDTA-3K	EDTA-2K	0.994	0.982～1.007	0.030	-0.055～0.102
フッ化Na/2Na EDTA	EDTA-2K	0.997	0.986～1.011	0.006	-0.080～0.074
ヘパリンリチウム	EDTA-2K	1.006	0.995～1.019	-0.038	-0.120～0.041
フッ化Na/K-Oxalate	EDTA-2K	1.010	0.994～1.023	-0.037	-0.113～0.059

検体数 (N)=79

検体濃度 (%HbA_{1c})=4.7～13.6

Passing-Bablok回帰：IFCC (mmol/mol)

抗凝固剤	比較検体 (x)	傾き	95% CI	Y切片	95% CI
EDTA-3K	EDTA-2K	0.994	0.982～1.007	0.187	-0.74～0.97
フッ化Na/2Na EDTA	EDTA-2K	0.997	0.986～1.011	-0.005	-0.94～0.74
ヘパリンリチウム	EDTA-2K	1.006	0.995～1.019	-0.274	-1.17～0.59
フッ化Na/K-Oxalate	EDTA-2K	1.01	0.994～1.023	-0.169	-1.00～0.88

検体数 (N)=79

検体濃度 (mmol/mol)=28～125

Deming回帰：NGSP (%)

抗凝固剤	比較検体 (x)	傾き	95% CI	Y切片	95% CI
EDTA-3K	EDTA-2K	0.997	0.978～1.015	0.011	-0.102～0.124
フッ化Na/2Na EDTA	EDTA-2K	1.003	0.985～1.020	-0.033	-0.135～0.069
ヘパリンリチウム	EDTA-2K	1.008	0.990～1.027	-0.042	-0.152～0.068
フッ化Na/K-Oxalate	EDTA-2K	1.007	0.989～1.025	-0.018	-0.127～0.091

検体数 (N)=79

検体濃度 (%HbA_{1c})=4.7～13.6

Deming回帰：IFCC (mmol/mol)

抗凝固剤	比較検体 (x)	傾き	95% CI	Y切片	95% CI
EDTA-3K	EDTA-2K	0.997	0.978～1.015	0.050	-1.19～1.28
フッ化Na/2Na EDTA	EDTA-2K	1.003	0.985～1.020	-0.290	-1.41～0.82
ヘパリンリチウム	EDTA-2K	1.008	0.990～1.027	-0.271	-1.47～0.93
フッ化Na/K-Oxalate	EDTA-2K	1.007	0.989～1.025	-0.032	-1.22～1.16

検体数 (N)=79

検体濃度 (mmol/mol)=28～125

4. 検出限界 (LoD) 及びブランク上限 (LoB)

CLSI EP17-A2²²に従い実施しました。

LoBはブランク検体の最高濃度です。本法のLoBは、総ヘモグロビン (tHb) についてはブランク5検体を含む合計60測定、%HbA_{1c}/HbA_{1c}についてはブランク5検体を含む合計75測定より求めました。

LoDは、95%の確率で検出可能なHbA_{1c}又はtHbの最低濃度に相当します。本法のLoDは、tHbについては低濃度5検体を含む合計60測定、%HbA_{1c}/HbA_{1c}については低濃度5検体を含む合計75測定より求めました。

本法のLoB及びLoDは以下のとおりです。

Limit	HbA _{1c} (%)	tHB (g/dL)	HbA _{1c} (g/dL)
LoB	3.6	0.0	0.21
LoD	3.7	0.5	0.23

* Limit	HbA _{1c} (mmol/mol)	tHB (mmol/L)	HbA _{1c} (mmol/L)
LoB	16	0.0	0.1
LoD	17	0.3	0.1

5. 校正用の基準物質 (標準物質)

HbA_{1c}：IFCCリファレンス法

総ヘモグロビン：シアンメトヘモグロビン法

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意

- 試料 (検体) は、HIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査実施にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペティングを行わないでください。
- サンプルカップ及び使用済みキュベットは体液成分が含まれているため、直接皮膚に触れたり口に含んだりしないように十分に注意ください。
- 試薬と標準液は異なるロットと組み合わせで使用しないでください。
- 標準液にはヒト由来成分が含まれています。原料は、米国で承認された検出法によりHIV-1、HIV-2、HBs抗原、及びHCV抗体が陰性であることを確認していますが、どのような検出法も完全とは言えませんので、GLPに従い使用時は感染の危険があるものとして取扱い上の注意を守り、皮膚に触れたり飲み込んだりしないでください。
- 次の試薬に関する危険有害性情報、注意事項を示します。

本品は、2-メチル-H4-インシアゾール-3-オンを含有しています。
H412
P273, P501
警告：
長期継続的影響により水生生物に有害です。
環境への放出を避けてください。内容及び容器は、地方自治体及び国の規制に従い廃棄ください。

2. 使用上の注意

- 本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存ください。
- 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 装置に試薬カートリッジを装填しシールが未開封の状態では30日間安定です。一度開封された状態では、第一試薬及び第三試薬は5日間、第二試薬は10日間安定です。
- 未開封の試薬カートリッジ及び標準液は2～8℃で外箱の使用期限まで安定です。調製した標準液は、蓋をした状態で25℃で8時間、2～8℃で48時間安定です。

定です。

- 試薬の注ぎ足しはしないでください。

- 廃棄上の注意：
 - 試料 (検体) 中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済み器具などは適切な消毒処理あるいは滅菌処理を行ってください。
 - 残った試薬や検体を廃棄する場合には、医療廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物又は産業廃棄物等区別して処理ください。
 - 試薬類や廃液などが飛散した場合には、拭き取りと消毒を行ってください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法 2～8℃

有効期間 12ヶ月 (使用期限は外箱に表示)

【包装単位】

120テスト (20テスト／カートリッジ×6)

【主要文献】

- King EJ. Alkaline hematin method for haemoglobin determination. *Br Med J.* 2(1):349-350, 1947.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard—Fifth Edition.* CLSI/NCCLS document H3-A5 [ISBN 1-56238-515-1]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2003.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Tubes and Additives for Venous Blood Specimen Collection; Approved Standard—Fifth Edition.* CLSI/NCCLS document H1-A5 [ISBN 1-56238-519-4]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2003.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline—Third Edition.* CLSI/NCCLS document H18-A3 [ISBN 1-56238-555-0]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2004.
- Ceriello A, Giuligiano D, Dello Russo P, Sgambato S, D’Onofrio F. Increased glycosylated hemoglobin A1 in opiate addicts. Evidence for hyperglycemic effect of morphine. *Diabetologia* 1962; 22:379.
- Goldstein DE, Wiedmeyer HM, England JD, Little RR, Parker KM. Recent advances in glycosylated hemoglobin measurements. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1984; 21:187-228.
- Miedema K. Influence of hemoglobin variants on the determination of glycated hemoglobin. *Klin Lab* 1993;39: 1029-1032
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) website: www.ngsp.org accessed November 3, 2017.
- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2017; 40 (Supplement 1): S11-S24.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2017. *Diabetes Care.* 2017; 40(Suppl. 1): S1–S135.
- Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson J, Miedema K, *et al.* IFCC Reference System for Measurement of Hemoglobin A1c in Human Blood and the National Standardization Schemes in the United States, Japan, and Sweden; A Method-Comparison Study. *Clin. Chem.* 50:1, 166-174, 2004.
- International Federation of Clinical Chemistry, Working Group on Standardization of Hemoglobin A1c website: http://www.ifccb1c.net accessed June 5, 2018.
- Peacock I. Glycosylated haemoglobin: measurement and clinical use. *J Clin Pathol* 1984; 37:841- 851.
- Lind T, Cheyne GA. Effect of normal pregnancy upon the glycosylated haemoglobins. *Br J Obstet Gyn* 1979; 86:210-213.
- Bunn HF, Gabbay KH, and Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science* 200: 21-27, 1978.
- Nathan DM. Labile glycosylated hemoglobin contributes to hemoglobin A1 as measured by liquid chromatography or electrophoresis. *Clin Chem.* 27:1261-1263, 1981.
- The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 329:977-986, 1993.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Third Edition.* CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
- Bland JM, Altman D.D., Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1:307-10.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

【問い合わせ先】

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社

カスタマーケアセンター

*TEL：03-4582-5520

製造販売元

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社

東京都品川区大崎1-11-1
 ゲートシティ大崎ウエストタワー