

## 1/23 Uso previsto

Determinazione quantitativa dell'emoglobina A1c (HbA1c) nel siero umano utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. Generalmente l'HbA1c viene dosata per valutare il controllo della glicemia nel diabete mellito. I valori di HbA1c forniscono indicazioni sui livelli di glucosio nelle precedenti 4-8 settimane. Valori elevati di HbA1c sono indice di uno scarso controllo glicemico. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

## Descrizione del test

Durante la vita nel flusso circolatorio dei globuli rossi, l'emoglobina A1c si forma continuamente per adduzione del glucosio all'N-terminale della catena beta dell'emoglobina. Questo processo, non enzimatico, riflette l'esposizione media dell'emoglobina al glucosio per un periodo prolungato. In uno studio classico, Trivelli et al<sup>1</sup> hanno dimostrato che l'emoglobina A1c nei soggetti diabetici è di 2-3 volte superiore ai livelli riscontrati nei soggetti normali. Diversi ricercatori hanno raccomandato di utilizzare l'emoglobina A1c come indicatore del controllo metabolico dei soggetti diabetici, poiché i livelli di emoglobina A1c si avvicinano ai valori normali per i diabetici in controllo metabolico.<sup>2,3,4</sup>

L'emoglobina A1c è stata definita operativamente come la "frazione veloce" delle emoglobine (HbA<sub>1a</sub>, A<sub>1b</sub>, A<sub>1c</sub>) che eluisce per prima durante la cromatografia su colonna con resine a scambio cationico. L'emoglobina non glicosilata, che costituisce la maggior parte dell'emoglobina, è stata designata HbA<sub>0</sub>. La procedura qui presentata utilizza una reazione tra antigene e anticorpo per determinare direttamente la concentrazione di HbA<sub>1c</sub>.

## Principio

Questo metodo utilizza l'interazione tra antigene e anticorpo per dosare direttamente l'HbA1c nel sangue intero. L'emoglobina totale e l'HbA1c hanno lo stesso tasso di assorbimento aspecifico delle particelle di lattice. Quando viene aggiunto l'anticorpo monoclonale murino anti-HbA1c (R2), si forma il complesso lattice-HbA1c-anticorpo murino anti-HbA1c umano. L'agglutinazione si forma quando l'anticorpo policlonale di capra anti-IgG murine interagisce con l'anticorpo monoclonale. La quantità di agglutinazione è proporzionale alla quantità di HbA1c assorbita sulla superficie delle particelle di lattice. La quantità di agglutinazione viene misurata come assorbanza. Il valore di HbA1c è ottenuto da una curva di calibrazione.

## Reagenti

R1: Lattice 0,13%, tampone, stabilizzatore. R2: Anticorpo monoclonale murino anti-HbA1c umana 0,05mg/ml, anticorpo policlonale caprino anti-IgG murine 0,08mg/dl, tampone, stabilizzatore.

## Conservazione dei reagenti

Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori

## Preparazione dei reagenti

I reagenti R1 e R2 vengono forniti sotto forma di liquido pronto all'uso. Mescolare delicatamente prima dell'uso.

## Deterioramento dei reagenti

Alterazioni dell'aspetto dei reagenti o valori dei controlli che non rientrano nell'intervallo di accettabilità indicato dal produttore possono indicare un'instabilità del reagente.

## Precauzioni e pericoli

1. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. Non adatto a uso interno o esterno negli animali e nell'uomo.

### Pericoli:

**Classificazione dei pericoli:** Sostanza o miscela non pericolosa.

**Icone e parole segnaletiche:** Non necessarie. **Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-H7546) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.**

**Rischi e consigli di prudenza:** Sostanza o miscela non pericolosa.

## Raccolta e conservazione dei campioni

Non è necessaria una preparazione specifica del paziente. Non sono richiesti prelievi da pazienti digiuni. Non sono necessari additivi o conservanti speciali, ma solo anticoagulanti. Raccogliere il sangue venoso con EDTA utilizzando una tecnica asettica. Tutti i campioni umani devono essere considerati potenzialmente a rischio biologico. Pertanto, per la manipolazione dei campioni è necessario le normali pratiche universali (guanti, indumenti da laboratorio, evitare la produzione di aerosol, ecc.)

Per dosare l'HbA1c, l'analizzatore prepara l'emolisato utilizzando l'applicazione di lisi integrata:

1. Il sangue ben miscelato va posto direttamente nel caricatore dei campioni o in apposite coppette. Un campione di sangue intero non miscelato potrebbe dare un risultato impreciso.  
Nota: Se si utilizzano provette in plastica o in vetro, verificare che siano di dimensioni appropriate.
2. In un campione di sangue intero, nel tempo gli eritrociti si depositano. Pertanto, l'analisi del campione deve essere avviata tempestivamente una volta caricati i campioni sull'analizzatore.

## Conservazione e stabilità

1. Reagenti restano stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Non utilizzare dopo la data di scadenza. I reagenti R1 e R2 restano stabili per almeno un mese dopo l'apertura, conservati a 2-8°C o riposti nel caricatore refrigerato per reagenti (2-10°C). Tuttavia, la stabilità dei reagenti può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.
2. L'emoglobina A1c nel sangue intero raccolto con EDTA è stabile per una settimana a 2-8°C.<sup>5</sup>

## Interferenze

1. La bilirubina fino a 50 mg/dL, l'acido ascorbico fino a 50 mg/dL, i trigliceridi fino a 2000 mg/dL, la carbaminoemoglobina fino a 7,5 mmol/L e l'Hb acetilata fino a 5,0 mmol/L non interferiscono con questo test.
2. È stata osservata la possibilità di risultati incoerenti in pazienti che presentano le seguenti condizioni: dipendenza da oppiacei, avvelenamento da piombo, alcolismo, ingestione di grandi dosi di aspirina.<sup>6,7,8,9</sup>
3. È stato riportato che livelli elevati di HbF possono portare a una sottostima dell'HA1c.<sup>10</sup> Inoltre, è stato riportato che gli intermedi labili (base di Schiff) non vengono rilevati e non interferiscono con la determinazione dell'HbA1c mediante immunodosaggio.<sup>5</sup>
4. È stato appurato che le varianti di emoglobina HbA2, HbC e HbS non interferiscono con questo metodo.
5. Altre varianti molto rare dell'emoglobina (ad es. HbE) non sono state valutate.

## Materiali in dotazione

Si veda la sezione "Reagenti"

## Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatore Yumizen C560.
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560.

# Kit reagenti Emoglobina A1c Pointe

- Pipette
- Kit di calibratori per Emoglobina A1c (numero di catalogo: H7541-CAL) e kit di controlli (numero di catalogo: H7541-CTL).

## Limitazioni

- Questo test non può essere utilizzato per la diagnosi del diabete mellito.
- I campioni dei pazienti devono essere analizzati utilizzando sempre una curva di calibrazione.
- È stata osservata la possibilità di risultati incoerenti in pazienti che presentano le seguenti condizioni: dipendenza da oppiacei, avvelenamento da piombo, alcolismo, ingestione di grandi dosi di aspirina.<sup>6, 7, 8, 9</sup>
- È stato riportato che livelli elevati di HbF possono portare a una sottostima dell'HbA1c e che l'uremia non interferisce con la determinazione dell'HbA1c mediante immunodosaggio.<sup>10</sup> Inoltre, è stato riportato che gli intermedi labili (base di Schiff) non vengono rilevati e non interferiscono con la determinazione dell'HbA1c mediante immunodosaggio.<sup>5</sup>
- È stato appurato che le varianti di emoglobina HbA2, HbC e HbS non interferiscono con questo metodo.
- Altre varianti molto rare dell'emoglobina (ad es. HbE) non sono state valutate.

## Controllo qualità

Ogni volta che si analizzano i campioni dei pazienti, occorre monitorare l'affidabilità dei risultati utilizzando standard e controlli di qualità analizzati con la stessa procedura dei campioni. Si raccomanda di utilizzare i controlli normalmente reperibili in commercio per emoglobina A1c con un determinato intervallo di dosaggio. Se i controlli non rientrano nell'intervallo di dosaggio, i valori dei pazienti per quel ciclo non devono essere riportati. Sarà necessario ripetere il ciclo di analisi assicurandosi di seguire scrupolosamente tutte le istruzioni di miscelazione e manipolazione. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Almeno ogni sei mesi occorre verificare la linearità dei test utilizzando un kit di controllo della linearità disponibile in commercio o diluizioni di un campione.

## Valori attesi <sup>11</sup>

Valori raccomandati: meno del 6% per un non diabetico, meno del 7% per il controllo glicemico di un diabetico.

Si raccomanda a tutti i laboratori di definire un proprio intervallo di valori attesi. Quando si utilizza l'emoglobina A1c per monitorare i pazienti diabetici, i risultati devono essere interpretati individualmente. Il paziente, quindi, deve essere monitorato rispetto a se stesso. L'emoglobina A1c riflette le variazioni del livello di glucosio nel sangue con un ritardo di 3-4 settimane.

## Prestazioni

- Intervallo di analisi: L'intervallo del dosaggio dell'emoglobina A1c è 2,0%-16,0%.
- Correlazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	HbA1c
N	40
HbA1c media (%)	6,949
Intervallo (%)	4,8-10,0
Deviazione standard	1,478
Analisi di regressione	$y = 0,934x + 0,302$
Coefficiente di correlazione	0,9889

- Precisione: Gli studi sulla precisione sono stati eseguiti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS.<sup>12</sup>

Campioni	Intra-giorn.		
	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20
Media	5,96	8,32	11,66
Deviazione standard	0,05	0,04	0,05
Coefficiente di variazione (%)	0,8%	0,5%	0,4%

Campioni	Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA
N	40	40	40
Media	6,00	8,33	11,47
Deviazione standard	0,04	0,06	0,10
Coefficiente di variazione (%)	0,6%	0,7%	0,8%

- Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 0.2%

## Riferimenti bibliografici

- Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284.353 (1971).
- Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
- Gabbay, K.H., Hasty, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
- Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 16 (Jan. 1978).
- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p.794-795 (1999).
- Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, p. 379 (1982).
- Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32, pp. 358-360 (1986).
- Fluckiger, R., et al, New Eng. J. Med. 304 pp. 823-827 (1981).
- Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, pp. 466-469 (1983).
- Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, pp. 93-97 (1989).
- American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

### PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	HbA1c	N.	219	Tipo campione:	Sangue intero
Denominazione:	Emoglobina A1c			Nome etichetta:	HbA1c
Tipo reazione:	End Point			Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	660			Lungh. d'onda sec.:	
Unità:	%			Decimale	0.1
T. bianco:	0	0		T. reazione:	80    82
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	4,0 ul	4,0 ul	200 ul	R1:	150 ul    -- ul
Decremento :	-- ul	-- ul	-- ul	R2:	50 ul    -- ul
Incremento:	-- ul	-- ul	-- ul	R3:	-- ul    -- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input type="checkbox"/> Ripetiz. automat.		R4:	-- ul    --- ul
<b><u>Regolazione pendenza/ Offset</u></b>					
	Pendenza: 1	Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	2	16	Limite linearità:	
Intervallo linearità (decremento)	---	---	Esaurim. substrato:	
Intervallo linearità (incremento)	---	---	Assorb bianco mix:	
Assorb bianco R1:	---	---	T. apertura	
Risp. bianco:	---	---	Limite allarme reag.:	
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi	
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

# Kit reagenti Emoglobina A1c Pointe

## PAMETRI DI CALIBRAZIONE

### Definizione calibratore

Calibratore: \* N. lotto: \*  
Data di scadenza: \*

### Caricatore

Pos.

Caricatore campioni 1  
Caricatore campioni 2  
Caricatore campioni 3

\*

### Reagente/calibrazione

Calibratore	Pos.	N. lotto	Data scad.	Analisi	Conc.	Unità
Acqua	W	*	*	HbA1c	*	%
HbA1c Cal 1	*	*	*	HbA1c	*	%
HbA1c Cal 2	*	*	*	HbA1c	*	%
HbA1c Cal 3	*	*	*	HbA1c	*	%
HbA1c Cal 4	*	*	*	HbA1c	*	%

### Configurazione calibrazione

Analisi chim.: HbA1c

### Impostazioni calibr.

Modello mat.: Spline

Fattore: Repliche: 1

### Limiti accettabilità

T. calibr.: 168 h  
Diff. pendenza: --- DS: ---  
Sensibilità: --- Ripetibilità: ---  
Coeff. deter.: ---

### Calibr. autom.

Cambio flacone  Cambio lotto  Ora cal.

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

\* Indica un parametro definito dall'utente.

**REF** 14-H7546-160



Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated- Pointe Brand  
5449 Research Drive Canton, MI 48188



### Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



### Legenda



Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)



Codice lotto e gruppo



N.



Fabbricante



Limitazioni di temperatura



Consultare il manuale di istruzioni