

Usso previsto

Determinazione quantitativa di emoglobina A1c (HbA1c) nel sangue umano. La determinazione di HbA1c viene comunemente eseguita per la valutazione del controllo glicemico in pazienti con diabete mellito. I valori di HbA1c forniscono un'indicazione dei livelli di glucosio presenti nel corso delle precedenti 4-8 settimane. Un elevato valore di HbA1c è indicativo di scarso controllo della glicemia. Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Riepilogo e spiegazione del test

Durante il ciclo vitale dei globuli rossi nel circolo sanguigno, l'emoglobina A1c si forma continuamente per addizione di glucosio al gruppo N-terminale della catena emoglobinica beta. Questo processo non enzimatico riflette l'esposizione media dell'emoglobina al glucosio nel corso di un periodo di tempo prolungato. In un noto studio, Trivelli et. al¹ hanno dimostrato che nei soggetti diabetici il livello di emoglobina A1c è più alto di 2-3 volte rispetto ai valori rilevati negli individui normali. Poiché nei soggetti con diabete in controllo metabolico i livelli di emoglobina A1c sono prossimi ai valori normali, diversi sperimentatori raccomandano l'uso dell'emoglobina A1c come indicatore per il controllo metabolico del diabete.^{2, 3, 4}

L'emoglobina A1c è stata definita operativamente come la "frazione veloce" delle emoglobine (HbA_{1a}, A_{1b}, A_{1c}), vale a dire la frazione che eluisce per prima nella cromatografia a colonna con resine a scambio cationico. L'emoglobina non glicata, che rappresenta la maggior parte dell'emoglobina, è stata designata come HbA₀. Per la determinazione diretta della concentrazione di HbA1c, la presente procedura si avvale di una reazione antigene/anticorpo.

Principio

Per la determinazione diretta di HbA1c nel sangue intero, questo metodo utilizza l'interazione antigene/anticorpo. Emoglobina totale e HbA1c hanno la stessa velocità di adsorbimento aspecifico con le particelle di lattice. Quando si aggiunge un anticorpo monoclonale murino anti-HbA1c umana (R2), si forma il complesso anticorpale lattice-HbA1c-anticorpo murino anti-HbA1c umana. L'agglutinazione avviene quando un anticorpo policlonale di capra anti-IgG di topo interagisce con l'anticorpo monoclonale. La quantità di agglutinazione è proporzionale alla quantità di HbA1c adsorbita sulla superficie delle particelle di lattice. La quantità di agglutinazione viene misurata come assorbanza. Il valore di HbA1c viene ricavato attraverso una curva di calibrazione.

Reagenti

R1: Lattice 0,13%, Tampone, Stabilizzante.

R2: Anticorpo monoclonale anti-HbA1c umana 0,05 mg/mL, anticorpo policlonale di capra anti-IgG di topo 0,08 mg/dL, Tampone, Stabilizzante. Reagente di emolisi: acqua e stabilizzante. (incluso nel kit da 40 mL, non incluso nel kit da 120 mL)

Conservazione del reagente

Conservare tutti i reagenti in frigorifero a 2-8 °C.

Preparazione del reagente

R1, R2 e i reagenti di emolisi vengono forniti in forma liquida di pronto uso. Mescolare delicatamente prima dell'uso.

Deterioramento del reagente

Alterazioni dell'aspetto fisico dei reagenti o variazioni dei valori attribuiti ai materiali di controllo al di fuori dell'intervallo di accettabilità stabilito dal produttore, possono indicare l'instabilità del reagente.

Strumentazioni

Fare riferimento alla specifica applicazione dello strumento in rapporto alle impostazioni suggerite.

Precauzioni

- Il presente reagente è indicato solo per l'uso diagnostico *in vitro*.
- Non indicato per l'uso interno o esterno in esseri umani o animali.

Prelievo e preparazione dei campioni

Non è necessaria alcuna speciale preparazione del paziente. Non è richiesto il prelievo di campioni a digiuno. Non sono necessari speciali additivi né conservanti diversi dagli anticoagulanti. Prelevare sangue venoso in EDTA con tecnica asettica. Ogni campione da prelievo umano deve essere considerato come potenzialmente infetto. Pertanto, quando si manipolano campioni, occorre adottare generali precauzioni di sicurezza (guanti, indumenti da laboratorio, evitare la produzione di aerosol, ecc.).

Per la determinazione di HbA1c occorre allestire un emolisato di ciascun campione:

- Dispensare 1 mL di Reagente di emolisi in provette etichettate con: Controllo, Pazienti, ecc.
- Nota: sono accettabili provette in vetro o plastica di dimensioni appropriate.
- Dispensare 20 µL di sangue intero ben mescolato nella provetta del reagente di lisi opportunamente etichettata. Mescolare.
- Lasciare riposare per 5 minuti o fino all'evidenza di completa lisi. Gli emolisati possono essere conservati fino a 10 giorni a 2-8 °C.

NOTA: molti analizzatori di chimica clinica possono eseguire automaticamente la fase di preparazione del campione, eliminando così la procedura di emolisi manuale. È possibile contattarci per richiedere la scheda tecnica specifica dello strumento (nome e modello dello strumento).

Conservazione e stabilità

- Tutti i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare i reagenti trascorso il termine della data di scadenza.
- R1 e R2 si mantengono stabili per almeno un mese dopo l'apertura se conservati a 2-8 °C.
- L'emoglobina A1c da sangue intero, prelevata con EDTA si mantiene stabile per una settimana a 2-8 °C.⁵

Interferenze

- Bilirubina a 50 mg/dL, acido ascorbico a 50 mg/dL, trigliceridi a 2000 mg/dL, Hb carbamidata Hb a 7,5 mmol/L e HV acetilata a 5,0 mmol/L non interferiscono su questo test.
- È stata riportata una possibile incoerenza di risultati in pazienti con le seguenti condizioni: dipendenza da oppiacei, avvelenamento da piombo, alcolismo, assunzione di dosi massicce di aspirina.^{6, 7, 8, 9}
- È stato segnalato che elevati livelli di HbF possono comportare una sottostima di HbA1c.¹⁰ Inoltre, è stato segnalato che gli intermedi labili (base di Schiff) non vengono rilevati, pertanto non interferiscono nella determinazione di HbA1c tramite dosaggio immunologico (immunoassay).⁵
- È stato verificato che le varianti di emoglobina HbA2, HbC e HbS non interferiscono con questo metodo.
- Non sono state valutate altre varianti molto rare di emoglobina (ad es., HbE).

Materiali forniti

Fare riferimento a "Reagenti"

Materiali necessari ma non forniti

- Pipette per dispensare 20 µL e 1 mL e Provette per il test capaci di contenere 1,02 mL.
- Set calibratore per emoglobina A1c, set controllo e, per il kit da 120 mL, reagente di emolisi.

Procedura (Hitachi 717 automatizzato)

NOME TEST	HbA1c
CODICE TEST	[1-PUNTO]:[50]-[0]
VOLUME CAMPIONE	[5] [3]
VOLUME DI R1	[180] [50] [NO]
VOLUME DI R2	[60] [20] [NO]
LUNGHEZZA D'ONDA	[] [660]
CALIBRAZIONE	[NONLINEARE] [4] [5]
STD (1) CONC-POS	[0.0*] [1]
TD (2) CONC-POS	[**] [2]
STD (3) CONC-POS	[**] [3]
STD (4) CONC-POS	[**] [4]

Emoglobina A1c Set del reagente

STD (5) CONC-POS	[**] [5]
STD (6) CONC-POS	-
LIMITE SD	[999]
LIMITE DUPLICATO	[1000]
LIMITE SENSITIVITÀ	[0]
LIMITE ABS (INC/DEC)	[32000] [IAUMENTO]
LIMITE PROZONA	[-] [-]
VALORE ATTESO	[-] [-]
VALORE DI PANICO	[-] [-]
FATTORE STRUMENTO	[1.0]

* Usare soluzione fisiologica per calibratore 0.0

** Inserire i valori del set calibratore utilizzato

Hitachi 717™ è un marchio registrato di Nissei Sangyo Co. Ltd., Giappone

Limitazioni

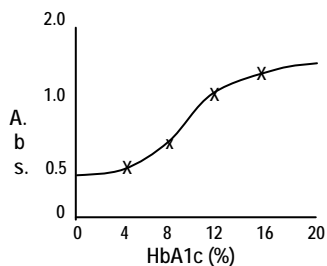
- Questo test non deve essere utilizzato per la diagnosi del diabete mellito.
- La valutazione dei campioni dei pazienti deve essere sempre effettuata rispetto a una curva di calibrazione.
- È stata riportata una possibile incoerenza di risultati in pazienti con le seguenti condizioni: dipendenza da oppiacei, avvelenamento da piombo, alcolismo, assunzione di dosi massicce di aspirina.^{6, 7, 8, 9}
- È stato segnalato che elevati livelli di HbF possono portare alla sottostima di HA1c e che l'uremia non interferisce con la determinazione di HbA1c condotta con dosaggio immunologico (immunoassay).¹⁰ È stato segnalato che gli intermedi labili (base di Schiff) non vengono rilevati, pertanto non interferiscono con la determinazione di HbA1c condotta con dosaggio immunologico (immunoassay).⁵
- È stato verificato che le varianti di emoglobina HbA2, HbC e HbS non interferiscono con questo metodo.
- Non sono state valutate altre varianti molto rare di emoglobina (ad es., HbE).

Controllo di qualità

L'affidabilità dei risultati del test deve essere monitorata con modalità analoghe a quella di campioni a dosaggio non noto anche quando si tratti di campioni di pazienti analizzati utilizzando uno standard e materiali di controllo. Sugeriamo l'utilizzo di controlli per emoglobina A1c di uso commerciale con range riferimento testati. Se i controlli non rientrano nel range di riferimento testato, i valori dei pazienti risultati dall'analisi non devono essere considerati. Pertanto, l'analisi andrà ripetuta, assicurandosi di rispettare rigorosamente ogni istruzione di miscelazione e manipolazione. Almeno ogni sei mesi, occorre verificare la linearità del test avvalendosi di un set di controllo di linearità di uso commerciale o utilizzando le diluizioni di un campione a elevata concentrazione.

Calcoli/risultati

I risultati di HbA1c per campioni a concentrazione non nota e controlli vengono determinati utilizzando la curva di calibrazione allestita. Qui di seguito viene riportato l'esempio di una curva di calibrazione:



Values¹¹ attesi

Valori raccomandati: inferiore a 6% per una persona non diabetica, inferiore a 7% per il controllo glicemico di una persona con diabete.

Ciascun laboratorio deve definire i propri valori attesi. L'uso di emoglobina A1c per il monitoraggio di pazienti diabetici richiede l'interpretazione dei risultati su base individuale. Ciò significa che il paziente deve essere monitorato rispetto a sé stesso. Occorre considerare un tempo di latenza di 3-4 settimane prima che l'emoglobina A1c rifletta i cambiamenti del livello di glucosio ematico.

Performance

- Linearità: L'intervallo di valori del test dell'emoglobina A1c è compreso tra 2,0% e 16,0%
- Confronto: Uno studio su 40 campioni umani, che ha messo a confronto la presente procedura con emoglobina A1c e una procedura HPLC automatizzata (Tosoh), ha fornito un coefficiente di correlazione di 0,988 e un'equazione di regressione lineare pari a $y=0,983x + 0,140$. ($Syx = 0,230$)
- Precisione:
Intra-test: La precisione intra-test è stata stabilita testando i campioni ematici secondo il protocollo NCCLS EP5 su Hitachi 717.

	BASSO	MEDIO	ALTO
N	20	20	20
Media	5,97	8,49	12,21
DS	0,138	0,072	0,152
CV	2,31%	0,85%	1,24%

Giornaliero: La precisione giornaliera è stata stabilita testando i campioni ematici secondo il protocollo NCCLS EP5 su Hitachi 717.

	BASSO	MEDIO	ALTO
N	20	20	20
Media	5,95	8,34	12,15
DS	0,190	0,093	0,179
CV	3,19%	1,12%	1,47%

- Sensibilità: La sensibilità è stata studiata leggendo la variazione di assorbanza a 660 nm tra un campione di soluzione fisiologica e un campione di sangue intero a concentrazione nota. Sono state eseguite dieci repliche per ciascun campione. I risultati di questa indagine hanno indicato che, sull'analizzatore utilizzato (Hitachi 717), il HbA1c reagente ha mostrato scarse o nessuna deviazione dal campione di zero. Nelle condizioni di reazione descritte, una cambiamento di assorbanza di 0,056 equivale a circa 1,0% di HbA1c.

Bibliografia

- 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).

Data di scadenza (AAAA-MM-GG) Codice di lotto e batch

Limite di temperatura

Consultare le istruzioni per l'uso

Numero di catalogo

Marchio CE

Produttore

Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea

Dispositivo medico diagnostico *in vitro*

Emoglobina A1c Set del reagente

Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIO

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net



REF

H7546-40
H7546-120



Prodotto da
Pointe Scientific 5449
Research Drive
Canton, MI 48188



IVD

Rev 12/15 P803-H7546-01-ITL



Data di scadenza (AAAA-MM-GG) **LOT** Codice di lotto e batch



Limite di temperatura



Consultare le istruzioni per l'uso

REF Numero di catalogo



Marchio CE



Produttore

IVD

Dispositivo medico diagnostico *in vitro*

EC REP

Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea