

EMOGLOBINA A1c. Test immuno turbidimetrico. Determinazione diretta di HbA1c senza misurazione della Emoglobina Totale.

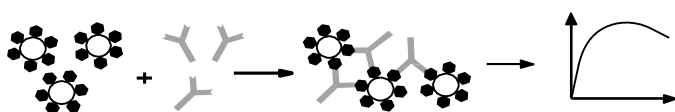
REF TB1030 R1: 1x30 mL + R2:1x10 mL

REF TB1032 R1: 3x20 mL + R2:1x20 mL

PRINCIPIO DEL METODO

Basato su reazione di agglutinazione al lattice. L'HbA1c dei campioni è assorbita sulla superficie delle particelle di lattice, che reagiscono successivamente con l'anticorpo anti-HbA1c (reazione antigene-anticorpo) formando degli agglomerati che danno torbidità alla soluzione. Questa torbidità, causata dall'agglutinazione del lattice, si misura fotometricamente a 660 nm. Utilizzando una curva di calibrazione, è possibile calcolare la concentrazione di HbA1c nel sangue intero.

- Campione e addizione di R1 (reagente al lattice)
- Addizione di R2 (reagente di anti-HbA1c) e inizio della reazione



Lattice con HbA1c + HbA1c + Anticorpo complesso → Agglutinazione Antigene/anticorpo → Misurazione Concentrazione Turbidimetrica

SIGNIFICATO CLINICO

La frazione emoglobinica A1c (HbA1c) è una emoglobina glicata che si forma dalla reazione non enzimatica del glucosio con l'emoglobina nativa. Questo processo viene eseguito continuamente per tutta la vita circolatoria del globulo rosso (100-120 giorni di tempo di vita media). Il tasso di glicazione è direttamente proporzionale alla concentrazione di glucosio nel sangue. Il livello ematico di HbA1c rappresenta il livello medio della glicemia nelle 6-8 settimane precedenti. Di conseguenza, l'HbA1c è adatta per il monitoraggio a lungo termine delle concentrazioni di glicemia in individui con diabete mellito. Studi clinici hanno dimostrato che l'abbassamento del livello di HbA1c può aiutare a prevenire o ritardare l'incidenza delle complicanze diabetiche tardive. Dato che la quantità di HbA1c dipende anche dalla quantità totale di emoglobina, il valore di HbA1c viene indicato come percentuale della concentrazione di emoglobina totale.

Falsi valori bassi (bassa HbA1c anche se in presenza di alta glicemia) possono verificarsi in condizioni di persone con una corta vita dei globuli rossi (anemia emolitica) o dovuto a una perdita recente e significativa di sangue (presenza in circolo di nuovi giovani eritrociti).

Falsi valori alti (alta HbA1c anche in presenza di glicemia normale) possono verificarsi in casi di anemia sidero priva (alta proporzione di vecchi eritrociti).

COMPOSIZIONE REAGENTE

Reagente R1:

Lattice	25mmol/L
Buffer	15 mmol/L

Reagente R2:

Buffer	15mmol/L
Anti-HbA1c anticorpo monoclonale	5.6 mg/dL
Anticorpo anti-IgG	12 mg/dL

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori dei controlli certificati. Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONE

Sangue intero con EDTA. Scartare i campioni contaminati.

Preparazione del campione:

Acqua distillata	500 µL
Campione	10 µL

Miscelare per 5 minuti oppure fino alla completa lisi delle emazie.

Il calibratore e i controlli sono pronti all'uso (nessuna fase preparativa).

Stabilità del campione:

Sangue intero: 1 settimana a 2-8°C;

Emolisato 10 ore a 15-25°C, 10 giorni a 2-8°C

PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	660 nm
Temperatura	+37° C
Misura:	Fixed Time contro bianco reagente

Pipettare come segue:

Reagente (R1)	300 µL
Campione / Calibratore	8 µL

Miscelare, attendere 120" e poi aggiungere:

Reagente (R2)	100 µL
---------------	--------

Miscelare e dopo 20 secondi leggere l'Assorbanza (Abs1), dopo altri 220 secondi leggere ancora l'Assorbanza (Abs2). Calcolare il Δ Abs (Abs2 - Abs1) per campioni e calibratori.

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Curva di calibrazione: 5 calibratori, incluso il calibratore 0.0%.

Calibrare ad ogni cambio di Lotto oppure se il controllo qualità fornisce risultati incorretti.

Per calibrare, utilizzare il seguente prodotto MTD Diagnostics fornito a parte:

TUC1020 HbA1c Calibration Set 5x1 mL

Fattori di conversione:

$HbA1c \% = (HbA1c \text{ mmol/mol} / 10,929) + 2,15$

$HbA1c \text{ mmol/l} = (HbA1c \% - 2,15) \times 10,929$

Standardizzazione:

IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) = mmol/mol

NGSP (National Glycohaemoglobin Standardization Program) e

DCCT (Diabete Control and Complications Trial) = %

CALCOLO

Calcolare per ogni campione in esame e per ogni calibratore il Δ Abs (Abs2-Abs1). Costruire una curva di calibrazione dose/risposta e su di essa riportare i valori del Δ Abs dei campioni in esame per ricavarne le concentrazioni incognite. Per calcoli computerizzati, il metodo di calcolo consigliato è la Curva SPLINE ma altri metodi possono essere utilizzati (Punto-Punto, Logit-Log 4P, etc.).

CONTROLLO QUALITA'

Sangue di controllo normale e patologico a concentrazione nota, deve essere analizzato regolarmente in ogni seduta analitica.

Il range dei valori dei controlli deve essere valutato come una linea guida potendo esso essere determinato dall'applicazione del metodo o dalla manualità dell'utente o da altri fattori. I valori ottenuti devono essere utilizzati ai fini della valutazione della Precisione del metodo (Ripetibilità). Per la valutazione della Accuratezza del metodo (Riproducibilità) è necessario aderire ad un programma di Valutazione Esterna Qualità (VEQ) gestito da enti certificati.

Utilizzare i controlli a 2 livelli di MTD Diagnostics:

HbA1c Control Set TUC1010 2 levels - 2x1 mL

VALORI DI RIFERIMENTO

Non Diabetici: 20,22 – 42,08 mmol/mol (4 - 6%)

Diabetici con buona compensazione: 42,08 – 53,01 mmol/mol (6 - 7%)

Diabetici scompensati: 53,01 – 63,93 mmol/mol (7 - 8%)

Cambio Terapia: > 63,93 mmol/mol (8%)

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

SPECIFICITA' / INTERFERENZE

Non hanno mostrato avere alcuna interferenza la Bilirubina fino a 50 mg/dL, l'Acido ascorbico fino a 60 mg/dL, la Lipemia (Intra-lipid) fino a concentrazione di 2000 mg/dL di Trigliceridi, RF fino a 250 IU/mL, Carbossiemoglobina fino a 7.5 mmol/L, Hb Acetilata fino a 5.0 mmol/L, varianti di Emoglobina HbC, HbS e HbA2. Livelli elevati di HbF possono dare falsi valori bassi di HbA1c. Alcolismo e ingestione di grandi quantità di aspirina possono dare risultati incoerenti.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 34,43; D.S. = 0,5; CV = 1,45%

Livello medio: Campioni= 20; Media = 64,70; D.S. = 1,11; CV = 1,71%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 101,09; D.S. = 1,98; CV = 1,95%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1.083 x - 0.560 ; \quad r = 0.987$$

SENSIBILITA': 9,29mmol/L (3%)

LINEARITA': 9,29 – 151,37 mmol/L (3 – 16%)

APPLICABILITA': Il test è applicabile a tutti i campioni con Emoglobina totale compresa nel range 6 – 26 g/dL

NOTE

1. Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

3. Lavaggio cuvette. Alcuni strumenti richiedono, attraverso il loro protocollo applicativo, un lavaggio più efficiente delle cuvette, specialmente quando si adoperano reagenti al lattice. In questi casi inserire sempre il più alto numero di lavaggi prevedibili dal software strumentale.

PRECAUZIONI

L'anticorpo presente nel reagente è di origine animale o monoclonale e non è in grado di trasmettere malattie infettive all'uomo. Tuttavia, poiché non ci sono metodi per garantire la totale assenza di tali agenti infettivi o di altri microbi, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente in grado di trasmettere malattie infettive di qualsiasi tipo, in conformità con gli standard della Buona Pratica di Laboratorio.

Il prodotto non contiene sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Il prodotto non è soggetto ad etichettatura secondo le direttive CE o le corrispondenti normative nazionali. Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorché maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. ClinChem Lab Med 2002;40:78-89.