

HEMOGLOBIN A1C-DIRECT (HbA1C-DIR)

COD 22047 2 x 60 mL + 2 x 12 mL	COD 22147 1 x 60 mL + 1 x 12 mL
Soltanto per uso in vitro nel laboratorio clinico	



EMOGLOBINA A1C-DIRETTA (HbA1C-DIR) DIRETTO

USO PREVISTO

Reagenti per la misura della concentrazione di emoglobina A1C (HbA1C) nel sangue. I valori ottenuti sono una guida utile nella diagnosi e nel monitoraggio del diabete mellito. Questo reagente deve essere utilizzato negli analizzatori BA di BioSystems o in un altro analizzatore avente analoghe prestazioni.

SIGNIFICATO CLINICO

L'emoglobina A1C è il prodotto della condensazione irreversibile del glucosio con il residuo N-terminale della catena β dell'emoglobina A.

La concentrazione di HbA1C nel sangue è direttamente proporzionale alla concentrazione media di glucosio nel lasso di tempo di 6-8 settimane, equivalente alla vita media degli eritrociti¹. Il glucosio medio stimato (eAG) si può calcolare con le formule di cui appresso².

$$eAG \text{ (mg/dL)} = 28,7 \times \text{HbA1C-NGSP-DCCT (\%)} - 46,7$$

$$eAG \text{ (mmol/L)} = 1,59 \times \text{HbA1C-NGSP-DCCT (\%)} - 2,59$$

$$eAG \text{ (mg/dL)} = 2,64 \times \text{HbA1C-IFCC (mmol/mol)} + 15,0$$

$$eAG \text{ (mmol/L)} = 0,146 \times \text{HbA1C-IFCC (mmol/mol)} + 0,843$$

I livelli di HbA1C costituiscono un complemento prezioso al calcolo del glucosio nel sangue nella valutazione del controllo della glicemia ai fini del follow-up dei pazienti diabetici, in quanto forniscono un'informazione più affidabile rispetto alla concentrazione di glucosio. Vari studi indicano che le complicanze connesse al diabete possono essere ridotte tramite un rigoroso controllo dei livelli di glucosio nel sangue. La concentrazione di HbA1C può rivelarsi utile anche nella diagnosi del diabete³.

La diagnosi clinica non va eseguita sulla base degli esiti di una sola prova ma deve tener conto anche dei dati clinici e di laboratorio.

PRINCIPIO DEL METODO

Dopo aver preparato un emolizzato, la concentrazione di emoglobina A1C (HbA1C) si quantifica mediante un procedimento turbidimetrico con lattice. Le differenti emoglobine presenti nell'emolizzato sono assorbite sulla superficie delle particelle di lattice in modo non specifico e in proporzione equivalente alla loro concentrazione nel campione. L'aggiunta di un anticorpo anti-HbA1C umana provoca un'agglutinazione proporzionale alla concentrazione di emoglobina A1C, che può essere quantificata mediante turbidimetria.

INDICE

	COD 22047	COD 22147
A. Reattivo	2 x 60 mL	1 x 60 mL
B. Reattivo	2 x 12 mL	1 x 12 mL

COMPOSIZIONE

- A. Reattivo. Sospensione di particelle di lattice, sodio azide 0,95 g/L, pH 8,0.
- B. Reattivo. Anticorpo anti-HbA1C umana, conservanti, pH 6,0.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare a 2-8°C.

Una volta aperti, i componenti sono stabili fino alla data di scadenza di cui all'etichetta se conservati ben chiusi ed evitandone la contaminazione durante l'uso.

Stabilità di cui alla tabella: I reagenti aperti e conservati nello scomparto refrigerato dell'analizzatore sono stabili 30 giorni.

Indicazioni di deterioramento: Assorbimento dello spazio superiore il limite di cui ai "Parametri di prova".

ALTRI MATERIALI NECESSARI (NON IN DOTAZIONE)

S. Standard di HbA1C diretta (cod. 31048), 4 livelli per 0,5 mL. Sangue umano. La concentrazione di HbA1C viene indicata nell'etichetta della boccetta.

Il siero umano utilizzato nella preparazione dello standard è stato testato e ha dato esito negativo alla ricerca di anticorpi anti-VIH e anti-VHC nonché dell'antigene HBs. Tuttavia, lo standard va trattato con precauzione in quanto è potenzialmente infettivo.

Ricostituire i liofilizzati con 0,5 mL di acqua distillata. Stabile 30 giorni a 2-8°C. Per periodi più lunghi, congelare in parti aliquote per evitare più cicli di congelamento-scongelo.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti sono pronti all'uso.

CAMPIONI

Sangue venoso prelevato mediante procedimenti standard e con EDTA come anticoagulante.

L'HbA1c nel sangue è stabile 7 giorni a 2-8°C.

METODO

Preparazione del campione emolizzato

Gli standard devono essere trattati allo stesso modo dei campioni dei pazienti.

- Servirsi di una pipetta per prelevare da un tubo campione.

Sangue	50 µL
Acqua distillata	5,0 mL

- Agitare delicatamente evitando la formazione di schiuma. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti.

Il campione emolizzato rimane stabile per 72 ore a 2-8°C.

Eseguire l'analisi secondo i Parametri della prova.

CALCOLO

I valori di concentrazione ottenuti sono tracciabili al metodo di riferimento descritto dalla IFCC.

I valori tracciabili al metodo di riferimento descritto dall'US National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) si ottengono mediante la seguente formula⁴.

$$\text{HbA1C-NGSP-DCCT (\%)} = 0,0915 \times \text{HbA1C-IFCC (mmol/mol)} + 2,15$$

CALIBRAZIONE

Ogni giorno effettuare un bianco di reagente e una calibrazione almeno ogni 30 giorni, a sostituzione avvenuta del lotto di reagente o come previsto dalle procedure di controllo della qualità.

CONTROLLO QUALITÀ

Si consiglia l'impiego dei controlli di emoglobina A1C, normale (cod. 18001) ed elevato (cod. 18002), per la verifica dell'esattezza della procedura di misurazione.

Ogni laboratorio è tenuto a definire un programma di controllo interno della qualità nonché procedure correttive se gli esiti dei controlli non rientrano nei limiti di accettabilità.

VALORI DI RIFERIMENTO

I seguenti valori sono stati stabiliti dal Diabetes Control and Complications Trial Research Group (DCCT) e sono stati accettati in diversi stati per la popolazione non diabetica e per la valutazione del grado di controllo del glucosio in sangue di pazienti diabetici^{1,5}.

IFCC mmol/mol)	NGSP-DCCT (%)	Valori di riferimento/Grado di controllo
20 - 48	4,0 - 6,5	Non diabetico
42 - 53	6,0 - 7,0	Obiettivo
53 - 64	7,0 - 8,0	Buon controllo
> 64	> 8,0	Intervento preciso

Questi valori si danno unicamente a titolo orientativo; si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca i propri intervalli di riferimento.

CARATTERISTICHE METROLOGICHE

Le caratteristiche metrologiche di seguito illustrate sono state ottenute con un analizzatore BA400 seguendo le linee guida del Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI.

- Limite di rilevanza: 1,9 mmol/mol
- Intervallo di misurazione (valore approssimativo che dipende dal valore dello standard di concentrazione più elevata): 2 - 140 mmol/mol.
- Precisione:

Concentrazione media	Ripetibilità (CV)	In laboratorio (CV)
34 mmol/mol	3,3 %	5,3 %
70 mmol/mol	1,5 %	2,2 %

- Veridicità: i risultati ottenuti con questi reagenti non hanno evidenziato differenze sistematiche significative se confrontati con reagenti di riferimento. I dati degli esperimenti comparativi sono disponibili su richiesta.

LIMITI DELLA PROCEDURA

Interferenze: la bilirubina (fino a 10 mg/dL) e la lipemia (trigliceridi fino a 400 mg/dL) non interferiscono. Eventuali interferenze da altri farmaci e sostanze⁶.

Nei test immunologici, la presenza di Hb-acetilata, Hb-carbamilata, HbA1C labile, HbE e HbD non influenza i risultati^{7,8}. Altre varianti di emoglobina, come HbS, HbF o HbC, possono interferire⁷.

Nei pazienti con anemia emolitica, anemia da carenza di ferro o susseguente ad una trasfusione, l'età media degli eritrociti si vede alterata. Per questo motivo, i risultati di HbA1c di questi pazienti devono essere interpretati con precauzione.

NOTA

Per evitare eventuali interferenze con altri tipi di test, si consiglia di realizzare le misurazioni di HbA1C in serie indipendenti dal resto delle tecniche.

BIBLIOGRAFIA

- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- Nathan DM, et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. Diabetes Care 2008; 31: 1473-1478.
- Nathan DM, et al. International Expert Committee report on the role of the HbA1C assay in the diagnosis of diabetes. Diabetes care 2009; 32: 1327-1334.
- Hoebel W et al. IFCC reference systems 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 2004;50:166-174.
- 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 Engl J Med 1993; 329: 977-986.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Bry L, Chen P, Sacks D. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. Clin Chem 2001;41:153-163.
- Little R.R., Rohlfing C; Hanson S, Connolly S, Higgins T, Weykamp C, D'Costa M, Luzzi V, Owen W, Roberts WL. Effects of Hemoglobin (Hb) E and HbD traits on measurements of Glycated Hb (HbA1C) by 23 methods. Clin Chem 2008, 54: 1277-1282..

PARAMETRI DELLA PROVA (Nota 1)

Reagenti utilizzabili in gran parte degli analizzatori automatici. Le apposite istruzioni di applicazione per molti di loro sono disponibili su richiesta.

R1: utilizzare il reagent A, R2: utilizzare il reagente B.

	BA200	BA400
GENERALE		
Denominazione	HbA1C-DIR	HbA1C-DIR
breve Denominazione	HbA1C-DIR	HbA1C-DIR
Tipo di campione	anima totale	anima totale
Modalità di analisi	tempo fisso bireagente	tempo fisso bireagente
Unità	mmol/mol	mmol/mol
decimali	0	0
Tipo reazione	crescente	crescente
PROCEDIMENTO		
Modalità lettura	monocromatica	monocromatica
Filtro principale	670	670
Filtro di riferimento	-	-
Campione	3	3
Vol. R1	190	190
Vol. R2	40	40
Letture 1 (ciclo)	19	37
Letture 2 (ciclo)	34	70
Fattore prediluizione	-	-
CALIBRAZIONE E BIANCO		
Tipo di bianco	acqua distillata	acqua distillata
Modalità di calibrazione	calibratore sperimentale	calibratore sperimentale
Numero di calibratori	4	4
Curva di calibrazione	poligonale crescente	poligonale crescente
OPZIONI		
Limite abs bianco	0,700	0,700
Limite bianco cinetico	-	-
Limite linearità	-	-
Substrato esausto	-	-

