

quantex HbA_{1c}

3000-2314

1 x 50 ml HbA_{1c} (Diluente), 1 x 28 ml Hb R1 (Reagente)
1 x 14 ml HbA_{1c} R1 (Reagente), 1 x 14 ml HbA_{1c} R2 (Reagente)**Uso**

I reagenti **quantex HbA_{1c}** sono per la determinazione quantitativa dell'emoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) nel sangue intero emolizzato in turbidimetria. Rivolgersi al distributore o alla Divisione Tecnica della BIOKIT, S.A. per altre applicazioni disponibili diverse da quelle indicate.

Riferirsi alla pubblicazione "Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests"¹ per un elenco delle cause d'innalzamento o diminuzione dell'emoglobina A_{1c}.

Sommario/Principio

Il Diabete Mellito è una patologia associata ad un insufficiente controllo della glicemia. Numerosi studi clinici dimostrano che il diabete e le sue complicazioni possono essere ridotte con il monitoraggio e lo stretto controllo dei livelli di glucosio nel sangue.

La determinazione di glucosio nel sangue permette di conoscere la situazione del paziente diabetico nel momento stesso del prelievo, mentre il valore di HbA_{1c} dà un'informazione circa il valore medio del glucosio nel sangue durante le ultime 6-8 settimane, indipendentemente dalla frequenza cardiaca, dalla dieta e altre fluttuazioni. E' pertanto, un indicatore a lungo termine del controllo del diabete, mentre la determinazione del glucosio nel sangue è solo un indicatore a breve termine.²⁻⁴

Il glucosio e altri monosaccaridi reagiscono con i gruppi amminici liberi delle proteine. La reazione si conosce come glicolisi e il termine glicemoglobina si usa per definire la glicolisi spontanea dell'emoglobina. Il livello di glicolisi dipende dal grado, così come dalla durata dell'incremento di glucosio nel sangue. La glicemoglobina totale si suddivide in varie frazioni. La frazione HbA_{1c} viene prodotta per glicolisi del gruppo ammino N-terminal dell'amminoacido valina della catena β dell'emoglobina con D-glucosio.²⁻⁴

Con i reagenti **quantex HbA_{1c}** devono essere determinate entrambe le concentrazioni, quella di emoglobina totale e quella di HbA_{1c}. Il risultato di entrambe viene espresso in g/dl. La risposta clinica di HbA_{1c} viene espressa in % rispetto alla concentrazione di emoglobina totale.

Determinazione dell'emoglobina totale:

La reazione inizia con l'aggiunta del reagente **quantex Hb emoglobina** al campione pretrattato che appare come una soluzione di colore verde. Il metodo trasforma tutti i derivati dell'emoglobina in ematina permettendo così la misura di emoglobina totale in end point.

Determinazione dell'HbA_{1c}:

La determinazione dell'HbA_{1c} è basata su un metodo al lattice con inibizione dell'agglutinazione.

L'HbA_{1c} presente nel campione reagisce specificatamente con il reagente **quantex HbA_{1c} lattice** sensibilizzato con anticorpi HbA_{1c} ma essendoci solo un sito specifico per ogni molecola di HbA_{1c}, non si produce nessuna agglutinazione. Per indurre l'agglutinazione si utilizza il reagente **quantex HbA_{1c} agglutinante**, un polimero sintetico che contiene coppie multiple della porzione immunoreattiva dell'HbA_{1c}, che si unisce ai siti liberi del lattice.

In assenza nel campione di HbA_{1c}, il reagente **quantex HbA_{1c} agglutinante** e il reagente **quantex HbA_{1c} lattice** agglutinano e questo produce un aumento dell'assorbanza che può essere misurata in turbidimetria.

Se il campione contiene HbA_{1c} questo reagisce con i siti liberi dell'anticorpo presenti nel reagente **quantex HbA_{1c} lattice**. In un secondo tempo il reagente **quantex HbA_{1c} agglutinante** si lega ai siti che sono rimasti liberi nel reagente **quantex HbA_{1c} lattice** e l'assorbanza finale diminuisce proporzionalmente alla concentrazione di HbA_{1c} presente nel campione.

La risposta di HbA_{1c} è calcolata seconda la formula:

$$\% \text{ HbA}_{1c} = \text{HbA}_{1c} \text{ (g/dl)} / \text{Hb totale (g/dl)} \times 100$$

I reagenti **quantex HbA_{1c}** sono stati messi in correlazione mediante un metodo di cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) validato dal NGSP. I risultati della correlazione sono stati i seguenti:

$$y = 1,289x - 0,123$$

$$r = 0,990$$

Reagenti

- HbA_{1c} - diluente **quantex HbA_{1c} emolizzante**:
Pepsina porcina in un tampone. Contiene conservanti.
- Hb R1 - reagente **quantex Hb emoglobina**:
Idrossido di sodio 0,4%, Triton 2,5% e ottil-fenossi-polietossietanolo 2,5%.
- HbA_{1c} R1 - reagente **quantex HbA_{1c} lattice**:
Sospensione di particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi monoclonali di HbA_{1c} in un tampone. Contiene albumina bovina sierica, tensioattivi 0,6% e Proclin 150 0,1%.
- HbA_{1c} R2 - reagente **quantex HbA_{1c} agglutinante**:
Aptene di HbA_{1c} unito covalentemente ad un polimero in un tampone. Contiene albumina bovina sierica, tensioattivi 0,6% e Proclin 150 0,1%.

Non miscelare reagenti di lotti differenti

Precauzioni

I reagenti **quantex** sono per uso diagnostico IN VITRO.

Far scorrere acqua in abbondanza quando si gettano i residui dei reagenti.

Poiché nessun metodo può offrire la totale sicurezza dell'assenza di agenti infettivi, questo prodotto deve essere manipolato con precauzione.⁵

Depositare tutti i materiali utilizzati in recipienti idonei per materiale biocontaminante.

Preparazioni dei reagenti

- Hb R1 (Reagente) : Pronto all'uso. Capovolgere alcune volte per ottenere una completa miscelazione prima dell'uso. Evitare la formazione di schiuma. Porre il contenitore sul piatto portareagenti.
- HbA_{1c} R1 (Reagente) : Pronto all'uso. Capovolgere alcune volte per ottenere una completa miscelazione prima dell'uso. Evitare la formazione di schiuma. Porre il contenitore sul piatto portareagenti.
- HbA_{1c} R2 (Reagente) : Pronto all'uso. Capovolgere alcune volte per ottenere una completa miscelazione prima dell'uso. Evitare la formazione di schiuma. Porre il contenitore sul piatto portareagenti.

Conservazione e stabilità dei reagenti

I reagenti contenuti in flaconi sigillati sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Non congelare.

Dopo l'apertura dei flaconi, i reagenti rimangono stabili per 14 giorni nello strumento a 10°C approssimativamente.

Per una migliore stabilità del prodotto, si consiglia di rimuovere i reagenti dallo strumento e di conservarli a 2-8°C nel flacone originale ben chiuso.

Campioni

Usare sangue intero o sangue capillare. Sono raccomandati EDTA-K o eparina d'ammonio come anticoagulanti. Altri anticoagulanti dovranno essere valutati prima dell'uso. I campioni possono essere conservati a 2-8°C per non più di 2 settimane o a -20°C per 6 mesi. I campioni congelati devono essere scongelati a temperatura ambiente, agitati bene prima dell'utilizzo e non devono essere ricongelati.

NOTA: I campioni di sangue devono essere agitati immediatamente prima dell'analisi.

Preparazione di campione

Miscelare 10 µl di sangue intero con 400 µl di diluente **quantex HbA_{1c} emolizzante** (diluizione 1:41). Evitare la formazione di schiuma. Tenere i campioni trattati almeno 5 minuti a temperatura ambiente prima dell'utilizzo.

Stabilità del campione pretrattato

Il campione trattato può essere conservato 8 ore a temperatura ambiente, o 48 ore a 2-8°C se tappato.

Alcuni campioni conservati possono presentare delle precipitazioni, si raccomanda di agitare bene i campioni prima dell'utilizzo.

Calibrazione

Utilizzare il **quantex HbA_{1c} standard multipunto** REF 3000-2315.

La calibrazione del reagente **quantex Hb emoglobina** avviene soltanto grazie al **quantex HbA_{1c} standard livello 1**.

La calibrazione del **quantex HbA_{1c} reagenti R1 e R2** avviene grazie ai **quantex HbA_{1c} standard livelli 1-6**.

Le concentrazioni in g/dl sono indicate nel foglio allegato. Ricalibrare ogni 20 giorni, quando viene introdotto un nuovo lotto di reagente, quando il valore di controllo è fuori range o quando vengono eseguiti degli interventi di manutenzione sullo strumento.

Controllo di qualità

Si raccomanda di utilizzare due livelli di controllo come il **quantex HbA_{1C} controllo III REF** 3000-2316. Analizzare i controlli almeno una volta al giorno. I valori attesi sono reperibili sui relativi fogli illustrativi. I valori dei controlli devono trovarsi nell'intervallo corrispondente. In caso contrario, l'utente dovrà adottare le opportune misure correttive. Per l'identificazione di situazioni anomale, si raccomanda di fare riferimento a studi come quello di Westgard *et al.*⁶

Variazioni dell'assorbanza tipica del bianco del reagente possono indicare un deterioramento del reagente. Se non si ottengono i risultati sperati, scartare il kit.

Interferenze

Nessuna interferenza da trigliceridi fino a concentrazioni di 1600 mg/dl, da bilirubina fino a concentrazioni di 30 mg/dl e da fattore reumatoide fino a 2000 UI/ml. Per un esame completo delle sostanze che provocano interferenza, fare riferimento alla pubblicazione di Young *et al.*⁷

Valori di riferimento

Dipende dal metodo utilizzato, l'HbA_{1C} è presente per il 4-6% nei pazienti non diabetici per il 6-8% nei diabetici controllati e può arrivare fino al 20% nei diabetici non controllati.

Sono stati testati 124 pazienti apparentemente sani utilizzando i reagenti **quantex HbA_{1C}**. I risultati hanno dato valori tra 4,5 - 6,2% con un valore medio del 5,4%

Si raccomanda comunque che ogni laboratorio definisca i propri valori di riferimento.

Precisione

BQA	Campioni	Media (% HbA _{1C})	CV (%)	Campioni	Media (% HbA _{1C})	CV (%)
Nel-run	4/10	4,9	1,5	4/10	9,9	2,0
Tra-runs	4/10	4,9	8,0	4/10	9,9	4,0

Comparazione di metodi

Strumento utilizzato	BQA
Reagente de comparazione (x)	Un altro test turbidimetrico
Reagente de prova (y)	quantex HbA_{1C}
Slope	0,96
Intercetta	0,00
Intervallo (% HbA _{1C})	6,16 - 13,03
r	0,98
n	40

Linearità

Hb totale : 7 a 23 g/dl

% HbA_{1C} : 1,8% a 17,2% (per Hb totale di 14 g/dl)

I campioni con valore superiore a 17,2% di HbA_{1C} non devono essere diluiti e il risultato deve essere espresso come > 17,2% HbA_{1C}.