

GLYCOSILATED HEMOGLOBIN A_{1c} - PRONTO

Determinazione cromatografico – spettrofotometrica
dell'Emoglobina A_{1c} nel sangue
Metodo a scambio ionico – Temperatura indipendente

20 test

REF KR05-20

USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'Emoglobina A_{1c} nel sangue.

PRINCIPIO DI REAZIONE

Mescolando un'aliquota di sangue intero con un reagente emolizzante si ottiene la lisi dei globuli rossi, il rilascio dell'emoglobina in essi contenuta e l'eliminazione della frazione labile. La frazione A1C dell'emoglobina glicosilata è successivamente separata dalle forme HbA_{1A+B} mediante cromatografia a scambio cationico.

La percentuale di HbA_{1C} nel campione si ottiene quindi dal rapporto tra l'assorbanza (a 415 nm) dell'eluato della colonnina e l'assorbanza dell'emoglobina totale.

Il procedimento non richiede l'uso di un calibratore e può essere eseguito in un intervallo di temperatura compreso tra i 20 e i 28°C.

REAGENTI E MATERIALI

Contenuto del kit:

REAGENT 1 Biftalato di potassio	1 x 10 ml
REAGENT 2 Tampone 42 mmol/L, LiCl, pH 5.96	1 x 40 ml
REAGENT 3 Tampone 50 mmol/L, LiCl, pH 5.98	1 x 40 ml
COLUMN Colonne cromatografiche	20

NOTA: utilizzare solo colonne e reagenti dello stesso lotto.

(*) I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose. Leggere le Schede di sicurezza.

STABILITÀ: i reagenti e le colonne sono stabili a 15-30°C fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. Conservare le colonnine al buio.

CAMPIONE

Sangue intero fresco raccolto con EDTA oppure ossalato di fluoro. Non usare eparina come anticoagulante.

STABILITÀ: 7 giorni a 2-8°C.

PROCEDIMENTO MANUALE

Lunghezza d'onda:	415 nm
Cammino ottico:	1 cm
Lettura:	contro acqua distillata
Temperatura:	20-28°C
Metodo:	spettrofotometrico
C.V. (intra-assay):	< 1,5%
C.V. (inter-assay):	< 4,0%

ATTENZIONE: Il test va eseguito in un ambiente con temperatura compresa tra i 20 e i 28°C. I reagenti e le colonnine devono essere condizionati alla stessa temperatura prima dell'utilizzo.

PREPARAZIONE DELL'EMOLIZZATO

Pipettare in una provetta:

Sangue	0.050 ml
Reagent 1	0.450 ml

Agitare energicamente e incubare a temperatura ambiente (20-28°C) per 10-15 minuti.

NOTA: l'emolizzato deve essere utilizzato entro 2 ore dalla preparazione.

SEPARAZIONE CROMATOGRAFICA

ATTENZIONE: per tutto il procedimento di separazione cromatografia, non lasciare la resina senza tampone per più di 5 minuti.

Pipettare nella colonnina:

Emolizzato	0.050 ml	Attendere 3 minuti. Scartare l'eventuale eluato
------------	----------	---

Pipettare:

Reagent 2	2.0 ml	scartare l'eluato
-----------	--------	-------------------

Mettere la colonna su una provetta (16 x 160 mm) e pipettare:

Reagent 3	2.0 ml	raccogliere l'eluato (frazione HbA _{1c})
-----------	--------	--

Mescolare l'eluato ottenuto e leggere l'assorbanza della frazione HbA_{1c} a 415 nm contro acqua distillata (A Hb A_{1c}).

PREPARAZIONE DELL'EMOGLOBINA TOTALE

Pipettare in una provetta (16 x 160 mm):

Emolizzato	0.100 ml
Acqua distillata	12.0 ml

Mescolare il campione e leggere l'assorbanza dell'emoglobina totale a 415 nm contro acqua distillata (A Hb TOTALE).

CALCOLO

$$(A \text{ Hb A}_{1c}) / (3 \times A \text{ Hb TOTALE}) \times 100 = \% \text{ HbA}_{1c}$$

VALORI DI RIFERIMENTO

Range normale: 4.2 - 6.2 %

Questi valori sono solo orientativi; ogni laboratorio dovrebbe stabilire il proprio range di valori normali.

OSSERVAZIONI

- Interferenze: valori errati possono essere ottenuti da campioni contenenti quantità anormalmente elevate di altre emoglobine a causa della loro eluizione simultanea con HbA_{1c} (HbF) o di differenze nella loro glicazione rispetto a quella dell'HbA (HbS).
- Confrontando il kit FAR (Y) per la determinazione dell'emoglobina glicosilata A_{1c} rispetto ad un kit in commercio (X) si è ottenuta la seguente retta di correlazione:
 $Y = 1,45X - 3$ $R = 0,957$.
- Smaltire i rifiuti secondo le leggi vigenti.

BIBLIOGRAFIA

- Mayer et Freedman (Clin.Chim.Acta, 1983; 127: 147-184)

LEGENDA SIMBOLI

IVD	dispositivo medico diagnostico in vitro
LOT	numero di lotto
REF	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni per l'uso

IVD

CE

Ed. 02 - Jan 2024 RR

PRODUTTORE



Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY
tel +39 045 6700870
sito web <http://www.fardiag.com>
e-mail: order@fardiag.com
e-mail: fardiag@fardiag.com