

# GLYCATED HEMOGLOBIN A1

Determinazione spettrofotometrica dell'emoglobina A1 (HbA1) su sangue intero  
Metodo a scambio ionico in provetta

40 test

REF KR13-40

## USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa dell'Emoglobina Glicosilata A1 su sangue.

L'emoglobina è una proteina presente nei globuli rossi la cui funzione è di trasportare l'ossigeno nel sangue.

L'emoglobina glicata si forma dalla reazione del glucosio con l'emoglobina. Quanto più glucosio c'è nel sangue, tanta più emoglobina glicata si forma. Una volta formata resta nel sangue per circa 3 mesi, il suo dosaggio permette, quindi, di stabilire quali sono stati i valori medi di glicemia negli ultimi 90 giorni.

## PRINCIPIO

Mescolando sangue intero emolizzato con una resina a scambio ionico la frazione di emoglobina non glicosilata si lega alla resina; un apposito filtro separa la resina dal surnatante che contiene l'emoglobina glicosilata.

La percentuale di emoglobina glicosilata (HbA1) viene determinata dal rapporto tra le assorbanze della frazione di emoglobina glicosilata e dell'emoglobina totale, rispetto ad un calibratore.

## REAGENTI

Solo per uso diagnostico in vitro.

Contenuto del kit		REF KR13-40
Reagent 1	reagente emolizzante	1x20 mL
Test Tubes	provette con resina	40 pz
Filters tubes	filtri	40 pz
Calibrator Iyo	valori riportati in etichetta	2 x 0.5 mL

STABILITÀ: i reagenti e le provette sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulle etichette se conservati ben chiusi a 2-8°C.

## MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Spettrofotometro o fotometro a filtri

Timer.

Pipette e puntali

Acqua distillata

Agitatore

Attrezzatura standard da laboratorio.

## CAMPIONE

Sangue intero in EDTA.

STABILITÀ: 7 giorni a 2-8°C.

## PREPARAZIONE DEL CALIBRATORE

Ricostituire il contenuto di un flacone di Calibrator con 0.5 mL di acqua distillata fredda. Agitare delicatamente per inversione fino a completa solubilizzazione. Eseguire la procedura rapidamente per non portare il calibratore a temperatura ambiente. Mettere subito in frigo.

STABILITÀ: il calibratore ricostituito è stabile 2 settimane a 2-8°C.

Non portare a temperatura ambiente, prelevare dal frigorifero il quantitativo necessario per il test (100 µL) e usare subito.

Nel caso in cui il calibratore non sia utilizzato entro le due settimane, aliquotare il calibratore in frazioni di 100 µL in provette con tappo tipo Eppendorf e congelare a -20°C.

STABILITÀ: 2 mesi a -20°C.

Scongelare e usare immediatamente.

Non utilizzare se vira al marrone o presenta torbidità.

## PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda:	415 nm
Cammino ottico:	1 cm
Lettura:	contro acqua distillata
Temperatura:	18-30°C
Metodo:	spettrofotometrico

## PREPARAZIONE DELL'EMOLIZZATO

In provette etichettate ECamp (campione) ed ECal (calibratore) pipettare:

	ECamp	ECal
Campione	100 µL	---
Calibratore	---	100 µL
Reagent 1	500 µL	500 µL

Agitare bene e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente.

## SEPARAZIONE DELL'EMOGLOBINA GLICOSILATA

Pipettare 100 µL di ECamp e di ECal in due provette con resina incluse nel kit (una per ogni campione e/o calibratore) opportunamente contraddistinte.

Posizionare i filtri nelle provette e spingerli fino a circa 2 cm dal livello del liquido.

Agitare per 5 minuti su un agitatore o a mano per inversione.

Lasciare depositare la resina e spingere il filtro fino a comprimere la resina sul fondo.

Trasferire il surnatante di campione e calibratore in cuvette e leggere entro un'ora le assorbanze contro acqua distillata.

## PREPARAZIONE DELL'EMOGLOBINA TOTALE

Pipettare in provette contraddistinte:

	Emoglobina Totale Campione	Emoglobina Totale Calibratore
Emolizz. Campione	20 µL	---
Emolizz. Calibratore	---	20 µL
Acqua distillata	5000 µL	5000 µL

Agitare le provette e leggere le assorbanze contro acqua distillata (AHb TOTALE) entro un'ora.

## CALCOLO

Calcolare il rapporto (R) dell'assorbanza dell'emoglobina glicosilata rispetto a quella dell'emoglobina totale per il campione e il calibratore. Calcolare la concentrazione del campione secondo la seguente equazione:

$$R \text{ (Rapporto del campione)} = \frac{\text{AHb GLIC (Camp)}}{\text{AHb TOTALE (Camp)}}$$

$$R \text{ (Rapporto del calibratore)} = \frac{\text{AHb GLIC (Cal)}}{\text{AHb TOTALE (Cal)}}$$

$$\% \text{ di Emogl. Glic Campione} = \frac{R \text{ (Camp)}}{R \text{ (Cal)}} \times \% \text{ Cal}$$

**Calcolare il valore R del Calibrator per ogni serie di campioni da analizzare per evitare la dipendenza del test dalla temperatura.**

## INTERVALLO DI RIFERIMENTO

Per HbA1

Normale: 6.0 - 8.3%

Patologico: > 10.0%

Poiché i valori normali dipendono dall'età, dal sesso, dalla dieta, dall'area geografica e da altri fattori, ogni laboratorio deve stabilire i propri valori normali di riferimento.

## DETERMINAZIONE DI HbA1c

Il valore di HbA1 ottenuto può essere convertito in un valore calcolato di HbA1c utilizzando la seguente formula:

Valore di HbA1c = (0.838 x valore di HbA1) - 0.732

Per ottenere direttamente il valore di HbA1c, utilizzare la percentuale di Calibrator di HbA1c riportata sull'etichetta del flacone.

Per HbA1c

Normale: 4.2 - 6.2%

Patologico: > 7.6%

## STIMA DELLA MEDIA DI GLUCOSIO NEL SANGUE

In pazienti che eseguono controlli frequenti, è possibile calcolare la media di glucosio nel sangue (MBG) nell'arco di 6-8 settimane (nel range 6.5-13.0%), utilizzando la seguente equazione:

$$\text{MGB (mg/dL)} = (36.7 \times \text{valore di HbA1}) - 185$$

## CONTROLLO QUALITÀ

Si raccomanda un programma di Controllo Qualità a tutti i laboratori di chimica clinica.

## PRESTAZIONI DEL METODO

**Limitazioni:** non sono conosciute limitazioni.

**Linearità:** 4.0% - 17%.

**Precisione nella serie:** CV 2.4%

**Precisione tra le serie:** CV 5%

**Interferenze:** lipemie elevate possono determinare falsi valori elevati di HbA1. In tal caso, centrifugare il sangue e risospendere i globuli rossi in un volume di soluzione fisiologica pari a quello del plasma iniziale ed eseguire il test.

## PRECAUZIONI D'USO

Non miscelare tra loro reagenti di lotti di produzione diversi.

Manipolare i reagenti con cautela, evitandone l'ingestione, il contatto con gli occhi, la pelle e le mucose.

I reagenti devono essere impiegati SOLO per l'uso indicato seguendo le norme di buona pratica di laboratorio.

Nelle schede di sicurezza (fornite su richiesta) vengono descritte le procedure per la manipolazione dei prodotti.

Una corretta diagnosi clinica non deve basarsi esclusivamente sul risultato di un solo test ma deve essere integrata con ulteriori dati clinici.

La temperatura ambientale, la temperatura dei reagenti di lavoro, l'accuratezza dei lavaggi e il tipo di spettrofotometro possono influire sulle prestazioni del test.

## OSSERVAZIONI

1. Diluire con soluzione fisiologica i campioni di sangue con emoglobina totale maggiore di 18 g/dL e moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.
2. La frazione instabile dell'emoglobina viene eliminata durante il mescolamento del sangue con la resina.
3. HbF non interferisce in maniera significativa.
4. HbS e HbC glicosilate si legano alla resina determinando falsi valori normali.

## SMALTIMENTO DEI MATERIALI

Smaltire i reagenti e i materiali usati in base alle normative del paese.

## BIBLIOGRAFIA

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

## LEGENDA SIMBOLI

 LOT	Codice lotto		Consultare le istruzioni per l'uso		Consultare la documentazione fornita		Fabbricante		Conformità Europea
 REF	Numero di catalogo		Utilizzare entro (data/anno)		Mantenere asciutto		Non riutilizzare		Non sterile
 IVD	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Tenere lontano dal calore		Fragile		



Ed. 04 - 03.2024 RR

## PRODUTTORE



Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel: +39 045 6700870 - sito web: <http://www.farddiag.com>

e-mail: [order@farddiag.com](mailto:order@farddiag.com) - e-mail: [farddiag@farddiag.com](mailto:farddiag@farddiag.com)