

INFORMAZIONE PER L'ORDINE

	Codice	Composizione
OPEN KONELAB INDIKO	REF B75182586	n° 2 flaconi x 20 mL R.A n° 2 flaconi x 7 mL R.B n° 2 flaconi x 100 mL (Reagente Lisante)
CHEMILAB	REF B82181041	n° 1 flaconi x 15 mL R.A n° 1 flaconi x 5 mL R. B

DESTINAZIONE D'USO

Test diagnostico immunturbidimetrico per la determinazione quantitativa della percentuale di Emoglobina A1c (HbA1c) su sangue intero umano. La misurazione della percentuale di HbA1c è usata per il monitoraggio a lungo termine della glicemia in pazienti diabetici. Tutti i risultati devono essere interpretati in relazione al contesto clinico.

SIGNIFICATO CLINICO

HbA1c si forma dalla reazione del glucosio con il gruppo amminico N-terminale della catena beta dell'emoglobina. Il gruppo di ricerca *Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)* in passato ha evidenziato un rapporto tra percentuale HbA1c e i livelli di glucosio medi nel sangue durante i precedenti 2 - 3 mesi. Lo studio DCCT ha anche dimostrato che il controllo a lungo termine del diabete può prevenire complicazioni come malattie cardiovascolari, retinopatia e neuropatia. La misurazione della percentuale di HbA1c è il metodo di scelta per il monitoraggio della terapia dei pazienti diabetici.

PRINCIPIO DEL METODO

Il test per HbA1c utilizza l'interazione tra antigene e anticorpo per determinare direttamente la concentrazione di HbA1c (%) nel sangue intero. Campioni di sangue intero sono trattati con Reagente Lisante per lisare i globuli rossi. Il campione lisato viene quindi incubato con microparticelle di lattice (reagente A). L'emoglobina e HbA1c vengono catturati sulle microparticelle. Quando si aggiunge l'anticorpo monoclonale (di topo) anti HbA1c (reagente B), si forma il complesso lattice - HbA1c - anticorpo. La quantità di agglutinazione è misurata turbidimetricamente ed è proporzionale alla quantità di HbA1c assorbito sulla superficie delle microparticelle.

Conservazione e stabilità

 = Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2-8°C, evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta. Una leggera variazione nella composizione, da lotto a lotto, non influisce sui risultati del test. Non mescolare reagenti di lotti diversi.

I reagenti non devono essere lasciati sull'analizzatore dopo l'uso ma devono essere conservati refrigerati a 2-8°C. Il lattice può sedimentare, mescolare delicatamente prima dell'uso.

Concentrazione

Reagente A		
	Conc.	U.M.
Latex microparticles	0,13	%
Stabilizzanti		
Reagente B		
Mouse anti human HbA1c (monoclonale)	0,05	mg/ml
IgG Anti topo (policlonale)	0,08	mg/dl
Buffer		
Stabilizzanti		
Reagente Lisante C		
Buffer		
Stabilizzanti (Sodio Azide)	< 0,01	%

Materiali inclusi nel kit

Reagente come descritto.

Materiali necessari non inclusi nel kit

Controlli, calibratori e pipette con volume adeguato

PRECAUZIONI e AVVERTENZE

- Lo smaltimento dei reagenti e dei materiali di scarto deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.
- I reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nel Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni.
- Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole della buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Non utilizzare il reattivo se risulta visibilmente degradato (es. presenza di corpuscoli).
- Tutti i campioni umani devono essere manipolati ed eliminati come materiali

potenzialmente infettivi.

- Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
- Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
- Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
- Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.

Segnalazione di incidenti gravi

Nel caso si verifichi un incidente grave in relazione all'utilizzo del dispositivo si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'autorità competente dello stato membro dell'Unione Europea in cui si è verificato l'incidente. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi. La segnalazione di incidenti gravi aiuta a fornire maggiori informazioni relativamente alla sicurezza del dispositivo medico diagnostico.

PROCEDIMENTO

Controllo Qualità

Utilizzare i controlli SCLAVO Diagnostics Int.: Controllo HbA1c Basso **REF** B35182584 e Alto **REF** B35182585 almeno una volta al giorno. Eseguire l'analisi dei controlli anche dopo ogni calibrazione. I controlli dopo ricostituzione devono subire il processo di emolisi. I valori ottenuti devono essere contenuti all'interno del range di accettabilità

TECNICA ANALITICA

Per le procedure automatiche consultare il manuale d'uso e le note applicative dell'analizzatore Konelab®-Indiko®. Tutte le applicazioni non esplicitamente approvate da Sclavo Diagnostics non possono essere garantite in termini di prestazioni e dovranno pertanto essere valutate dall'utilizzatore.

Calibrazione

Per la calibrazione utilizzare il Calibratore HbA1C Sclavo Diagnostics **REF** B35182583. I valori del calibratore possono variare da lotto a lotto come indicato sulle istruzioni per l'uso. La calibrazione è stabile fino a 14 giorni. Una nuova calibrazione è necessaria in caso di cambio di lotto o se un controllo risulta essere fuori dal range di accettabilità.

Tracciabilità

La HbA1c è tracciabile verso gli standard di riferimento della International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) e NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program).

CAMPIONE

Tipo di campione e conservazione

Si può utilizzare sangue ottenuto con la normale tecnica medica. Non è necessaria specifica preparazione del paziente. Si possono utilizzare solo i campioni addizionati con le seguenti sostanze:

- EDTA dipotassio (K2- EDTA)
- Lito eparina (Li-Heparin)

Altri additivi non sono stati testati per l'utilizzo con questo kit.

Non utilizzare campioni: inattivati al calore, mescolati in pool, con evidente contaminazione microbica.

Campioni Freschi / Non congelati

- Non centrifugare
- Miscelare accuratamente i campioni prima dell'uso

Campioni congelati

- Scongellare i campioni per un minimo di 30 minuti
- Miscelare accuratamente i campioni scongelati per inversione
- Ispezionare visivamente il campione. Se si osserva stratificazione continuare a miscelare finché non risultano visibilmente omogenei.

Preparazione manuale dell'emolisato

Per determinare il livello di HbA1c, deve essere preparato un emolisato per ogni campione:

- Dispensare 1 ml di Reagente Lisante nelle provette appropriatamente etichettate
Nota: Tubi di plastica o di vetro di dimensioni adeguate sono accettabili
- Trasferire 20 µl di campione di sangue intero miscelato, nel tubo contenente il reagente lisante (appropriatamente siglato)
- Mescolare accuratamente tramite Vortex per 30 secondi
- Lasciare campioni riposare per 5 minuti o comunque fino a completa lisi
- Subito dopo l'uso chiudere la bottiglia di Reagente Lisante

Conservazione e stabilità del campione

I campioni di sangue intero sono stabili:

- 6 ore a temperatura ambiente
- 5 giorni a 2-8 ° C o 14 giorni a -20 ° C

Evitare più di un ciclo di congelamento / scongelamento

Il lisato (Emolisato) è stabile:

- 6 ore a temperatura ambiente
- 10 giorni a 2-8 ° C

Se conservato a bordo dello strumento il test deve essere eseguito entro due ore.

Precauzioni

Tutti i campioni umani devono essere trattati come campioni potenzialmente infetti.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

I reagenti sono liquidi pronti all'uso. Dopo l'apertura i reagenti sono stabili fino a data di scadenza se mantenuti nelle condizioni indicate in "Conservazione e stabilità".



Automazione

Il kit può essere utilizzato con tutti gli analizzatori automatici che possano soddisfare le condizioni operative del reagente mantenendo inalterati i rapporti volumetrici R1/R2/C. Sono disponibili le applicazioni validate per le strumentazioni Sclavo Konelab® - Indiko® e CHEMLAB. Le applicazioni non approvate da Sclavo Diagnostics non garantiscono le prestazioni del reagente e devono quindi essere approvate sotto la responsabilità dell'utente.

METODO MANUALE

Il kit, nel formato Open, può essere utilizzato con metodo manuale tramite l'utilizzo di spettrofotometro o fotometro con i parametri sotto riportati:

Condizione di reazione

Lunghezza d'onda: 600 nm (600-660)

Temperatura: 37°C

	U.M.	Bianco	Siero di Calib.	Campione
Reagente A	µL	360	10	360
Miscelare delicatamente e incubare a 37° per 5 minuti, aggiungere:				
Reagente B	µL	120	10	120

Miscelare bene e leggere l'assorbanza dopo 5 minuti. I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente, senza alterazione dei risultati.

Calcolo dei risultati

I risultati vengono calcolati automaticamente dall'analizzatore utilizzando la curva di calibrazione. L'unità di misura utilizzata è la % di HbA1c. Per le unità alternative devono essere utilizzate le seguenti formule:

% HbA1c a IFCC mmol / mol = [% HbA1c x 10,93] - 23,50

IFCC mmol / mol a % IFCC mmol / mol = [mmol / mol x 0,09148] + 2,152

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Per il monitoraggio di pazienti diabetici, si raccomanda che siano individuati obiettivi glicemici secondo le raccomandazioni della American Diabetes Association (ADA) riassunte nella seguente tabella:

Valore HbA1c	Obiettivo Glicemico
64 mmol/mol (< 8%)	Poco stringente "Paziente diabetico con scarso controllo glicemico"
53 mmol/mol (< 7%)	Generale (adulti non in gravidanza) "Paziente diabetico con buon controllo glicemico"
48 mmol/mol (< 6.5%)	Molto stringente "Paziente normale non diabetico"

Come raccomandato da ADA, i pazienti compresi nel range 5.7 - 6.4 % HbA1c (39 - 46 mmol/mol) possono essere inseriti nella categoria con aumentato rischio di diabete.

CARATTERISTICHE / PRESTAZIONI

Intervallo analitico

Il metodo garantisce una corretta misura del dato nell'intervallo compreso tra la concentrazione minima rilevabile e la concentrazione massima del calibratore. I campioni superiori al range di misura **NON DEVONO ESSERE DILUITI**. Questi campioni devono essere analizzati con un test alternativo.

Esattezza

L'Esattezza dei risultati analitici è stata determinata in accordo con il protocollo CLSI EP15-A2, analizzando campioni di controllo. I dati ottenuti con analizzatori Konelab - Indiko® sono riportati nella tabella successiva (intervallo di confidenza 95%).

Livello	Replicati	Valore	Media	SD	Recovery
Basso	15	6,00	5,98	0,14	99,7 %
Alto	15	11,10	13,07	0,10	117,7 %

Specificità

Derivati dell'Emoglobina (Hb)

Frazioni labili di Hb, Hb acetilata e carbamidata non interferiscono in questo test. Due campioni umani di sangue intero con concentrazioni% di HbA1c del 6-7% e 8-9%, sono stati testati in presenza di concentrazioni fisiologiche, di Sodio Cianato, Acetilsalicilato, Glucosio e Urea e non sono state rilevate differenze rispetto ai campioni di riferimento (considerando come accettabile una deviazione standard < 10%)

Varianti dell'emoglobina

Le seguenti varianti non interferiscono con il test: Hbs, HbC, HbD, HbA2, HbE. Altri livelli di HbF possono portare ad una sottostima di HbA1c. Altre varianti non sono state testate nel dosaggio. È comunque necessario prestare attenzione quando si interpretano i risultati dell'HbA1c da pazienti con elevati livelli di varianti Hb.

Limiti della procedura

- Le emoglobinopatie possono interferire con l'analisi emoglobina glicata. Le varianti comuni di emoglobina sono state testate con questo saggio (fare riferimento alla sezione Specificità).

- E' possibile che altre sostanze e/o fattori non testati possano interferire con il dosaggio. (fare riferimento alla sezione interferenze)

- I risultati possono essere discordanti in pazienti che mostrino le seguenti condizioni: dipendenza da oppiacei, alcolismo, ingestione di grandi quantitativi di aspirina.

- Questo test non è destinato a:

- La diagnosi di diabete

- Non dovrebbe essere utilizzato per sostituire i test giornalieri eseguiti a casa dei livelli di glucosio nel sangue e nelle urine

- I campioni da pazienti con livelli totali di emoglobina < 8g/dL possono risultare parzialmente negativi

- Analisi dei campioni di pazienti con condizioni che causano accorciamento dell'emivita dei globuli rossi come l'anemia emolitica, o altre malattie emolitiche, significative perdite di sangue acute o croniche o la gravidanza.

Interferenze

L'influenza sulla risposta analitica delle seguenti sostanze potenzialmente interferenti è stata testata fino alle concentrazioni riportate di seguito:

Bilirubina 38 mg/dL, acido ascorbico 50 mg/dl, trigliceridi 1000 mg/dL, Fattore Reumatoide 600 Ull/mL, Proteine Totali 14 g/dl. Concentrazioni più elevate non sono state testate. Si deve prestare attenzione all'analisi di campioni da pazienti che hanno ricevuto preparazioni di anticorpi monoclonali murini, per diagnosi o terapia, in quanto potrebbero contenere anticorpi anti-topo (HAMA). I campioni contenenti HAMA possono dare valori inaspettati durante il test sia in questo saggio che in tutti quelli che utilizzano anticorpi murini.

Precisione

La Precisione dei risultati analitici è stata determinata in termini di Ripetibilità e Precisione Totale secondo il protocollo CLSI EP15-A2, analizzando sieri di controllo commerciali. I dati ottenuti sono riportati nella tabella successiva (determinazioni intervallo di confidenza 95%).

Precisione nella serie (Within-run precision) – Ripetibilità				
Livello	Replicati	Media (%)	DS	CV%
Basso	20	5.95	0.19	3.2
Alto	20	12.15	0.18	1.47
Precisione totale (Within-lab precision)				
Livello	Replicati	Media (%)	DS	CV%
Basso	20	5.97	0.14	2.31
Alto	20	12.21	0.15	1.24

Limite di Sensibilità

La quantità minima misurabile è 1% di HbA1c (0.056 A)

Confronto tra metodi

Il metodo in esame è stato confrontato con altro metodo disponibile commercialmente secondo il protocollo CLSI EP09-A2-IR, analizzando 40 campioni. I dati di correlazione tra i due metodi sono riportati nella tabella sottostante.

Parametro	Stima
Intercetta	-0.047
Pendenza	0.989
Coeff. Correlazione (R)	0.995

Simboli utilizzati in IFU e Packaging

 Dispositivo medico diagnostico in vitro	 Fabbricante
 Numero di catalogo	 Istruzioni per l'uso
 Numero del lotto	 Temperatura di conservazione
 Data di scadenza	

BIBLIOGRAFIA

- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993).** The effect of intensive treatment of Diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Eng J Med. 329 (14): 977-986.
- Lester E. (1989).** The clinical value of glycated haemoglobin and glycated plasma proteins. Ann. Clin. Biochem. 26:213-219.
- Goldstein DE, Little RR, Weidmeyer H-M et al. (1986).** Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. Clin Chem. 32 (10): B64-B70.
- American Diabetes Association (2012)** Position Statement: Standards of medical Care in Diabetes. In: Diabetes care 2012; 35 (Suppl 1): S11-S63.
- Primus FJ, Kelley EA, Hansen HJ et al (1988).** "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. Clin. Chem 34(2): 261-264
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline – Second Edition. EP15-A2. Vol 25 N. 17
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurements Methods; Approved Guideline – Second Edition. EP05-A2. Vol 24 N. 25
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Third Edition. EP09-A3. Vol 33 N. 11

REVISIONE	DATA	MOTIVO DELLA REVISIONE
Rev.A	01/2023	Nuova emissione per adeguamento IVD Regolamento (UE) 2017/746

