

REF 3155005 1 x 40 mL CONTINUT R1. Reactiv 1 x 30 mL R2a. Reactiv 1 x 9,5 mL R2b. Reactiv 1 x 0,5 mL	REF 3156005 1 x 125 mL CONTINUT R1. Reactiv 1 x 125 mL
Numai pentru diagnosticarea <i>in vitro</i>	

HbA1c Turbidimetric

Turbidimetrie Latex

PRINCIPIU

Aceasta metoda determina direct hemoglobina A1c (HbA1c) in sangele integral, utilizand o reactie antigen -anticorp. Hemoglobina totala si hemoglobina HbA1c contribuie pentru gradul de absorbtie nespecific al particulelor de latex (R1). Cand este adaugat anticorpul monoclonal anti-om HbA1c monoclonal (R2), se formeaza un complex latex-HbA1c-anti-human HbA1. Prezenta anticorpului policlonal de capra anti-soarece IgG provoaca aglutinare particulelor (complexelor). Cantitatea de aglutinat este proportionala cu concentratia de HbA1c din proba si poate fi masurata prin turbidimetrie.

COMPOZITIA REACTIVILOR

- R1** Suspensie de latex. particule de polistiren in solutie tampon, stabilizatori. pH 8.0 +/- 0.2
- R2a** Anticorp A. Anticorp monoclonal de soarece anti-om HbA1c in solutie tampon, azida de sodiu 0.9 g/L.
- R2b** Anticorp B Anticorp policlonal de capra anti-soarece IgG in solutie tampon, azida de sodiu 0.9 g/L.
- R1** Reactiv Lizant: Cod 3156005 tampon, azida de sodiu 0.9 g/L.

Optionale

Set de calibrare HbA1c: (4 x 0,5 mL) Cod:3955005. 4 nivele de calibratori HbA1c preparate din eritrocite umane. Contine stabilizatori.

Set de control HbA1c: (2 x 0,5 mL) Cod: 3955010. 2 nivele de controale HbA1c preparate din eritrocite umane. Contine stabilizatori.

Atentie: Reactivii contin azida de sodiu 0.95 g/L. Evitati orice contact cu pielea sau mucoasele.

PREGATIREA REACTIVILOR

- R1** Gata de utilizare. Amestecati bine inainte de utilizare.
- R2** Turnati tot volumul de R2b in fiola R2a. Stabil 30 zile la 2-8°C

PASTRARE SI STABILITATE

1. Reactivii raman stabili pana la data de expirare tiparita pe eticheta, daca sunt respectate conditiile de pastrare: Flacoane inchise, la 2-8°C si prevenirea contaminarii in timpul utilizarii. Flacoanele deschise sunt stabile 1 luna daca sunt pastrate la 2-8°C. Nu utilizati reactivii dupa data expirarii. Nu combinati reactivii din loturi diferite.

2. Deteriorarea reactivilor: Prezenta particulelor, turbiditate si cresterea absorbtie reactivului blank.

PROBELE

Sange venos recoltat pe EDTA (Nota 1).

1. Pipetati 1 mL *Reactiv Lizare* in tuburi etichetate (Nota 2): Controale sau probe pacient.
2. Pipetati 200 µL de sange de pacient (sau control, calibrator) bine omogenizat in fiecare tub. Amesetcati.
3. Incubati 5 minute la temperatura camerei pana la observarea lizarii complete. Lizatul este stabil 10 zile la 2-8°C.

CALIBRAREA

Blank: Faceti blankul de reactiv cu apa distilata.

Calibratori: Folositi 4 nivele de calibrator HbA1c. Pentru calibratorul cu valoarea 0 folositi o solutie de NaCl 9 g/L.

MATERIALE NECESARE

Baie termostata la 37°C.

- Spectrofotometru sau fotometru termostatat la 37°C cu filtru de 600 ± 20 nm.

PROCEDURA

Procedura Preliminara

Preincalziti reactivul si fotometrul (suportul cuvetei) la 37°C

Procedura analitica (Nota 3).

1. Folosind apa distilata, aduceti aparatul la absorbanta zero la 600 nm
2. Pipetati intr-o cuveta:

Suspensie de latex (R1)	0.7 mL
-------------------------	--------

3. Incubati 3-5 minute la 37°C.

4. Pipetati:

Proba / Calibrator / Apa (Blank)	20 µL
----------------------------------	-------

5. Incubati 5 minute la 37°C.

6. Pipetati:

Anticorp (R2)	0.250 mL
---------------	----------

7. Amestecati bine si incubati la 37°C pentru 5 minute. La sfarsitul acestui interval, cititi absorbanta (A) la 600 nm.

Calculule

Calculati diferenta absorbantelor:

$(A_{\text{proba}} - A_{\text{Blank}})$ pentru fiecare punct al curbei de calibrare si treceti pe hartie milimetrica valorile obtinute, fata de concentratia HbA1c a fiecarui calibrator. Concentratia HbA1c a probelor necunoscute eset calculata prin interpolarea valorii $(A_{\text{proba}} - A_{\text{Blank}})$ pe curba de calibrare.

Procedura de calcul poate fi automatizata prin utilizarea facilitatilor fotometrelor cu calibrare multipunct sau a unui program informatic.

CONTROLUL DE CALITATE

Se recomanda folosirea controalelor HbA1c pentru monitorizarea procedurilor de lucru manuale si automate. Se recomanda folosirea setului de controale cu nr de catalog 3955010.

Fiecare laborator trebuie sa-si stabileasca propria schema de control si sa adopte masurile de corectie ce se impun daca controalele nu intrunesc tolerantele acceptabile.

La fiecare 6 luni trebuie verificata linearitatea metodei, cu un test comercial de verificare a linearitatii sau cu dilutii ale unei probe cu valori mari.

VALORI DE REFERINTA

Tabelul de mai jos indica valorile de prag stabilite de *Diabetes Control and Complications Trial Research Group* (DCCT) si au fost adoptate pentru o populatie de referinat / non-diabetica cat si pentru evaluarea gradului de control al glicemiei la pacientii diabetici^{2,5}.

DCCT / NGSP	IFCC	Gradul de control
4.0-6.0	2.0-4.2	Nediabetic
6.0-6.5	4.2-4.8	Ideal
6.5-8.0	4.8-6.4	Control bun
>8.0	>6.4	Se recomanda masuri

Fiecare laborator trebuie sa-si stabileasca propriile valori de referinta. (Nota 4 si 5).

SEMNIFICATIA CLINICA

HbA1c este produsul condensarii ireversibile a glucozei cu terminalul N rezidual al lantului β al hemoglobinei A. Concentratia de HbA1c este direct proportionala cu concentratia glucozei in sange, si reprezinta integrarea valorii glucozei pentru 6 - 8 saptamani precedente testarii. Valorile HbA1c nu sunt influentate de variatile zilnice ale glucozei si nic de exercitiile zilnice sau de aportul recent de alimente. Determinarea HbA1c este efectuata cel mai frecvent pentru evaluarea controlului glicemic la pacientii diabetici, cu toate ca nu este adecvta pentru controlul diabetului zaharat. O valoare crescuta HbA1c indica un control glicemic scazut. Acest proces reflecta expunerea medie a hemoglobinei la glucoza pe o perioada de timp indelungata. Nivelul HbA1c la pacientii diabetici poate fi crescut de 2-3 ori fata de nivelele gasite la indivizii normali. HbA1c serveste ca un indicator al controlului metabolic al diabetului, deoarece nivelul HbA1c la un diabetic in control metabolic se apropie de valorile pentru pacientii normali.²⁻⁴

PERFORMANTE ANALITICE

- **Domeniul de masura.** 2.0% - 16.0 % conform conditiilor de testare descrise (Nota 6). Probele cu concentratii ridicate trebuie diluate $\frac{1}{2}$ cu solutie salina NaCl 9 g/L (0.9%) si reanalizate.

- **Sensibilitatea analitica.** 0.073 Ab / 1.0% HbA1c.

- **Precizia** (NCCLS, protocolul EP5, Hitachi 917).

	Media (%)	DE (%)	CV (%)
Intra-test N=20	4.76	0.06	1.26
	7.29	0.08	1.10
	10.9	0.16	1.46
Inter-teste N=20	4.72	0.06	1.27
	7.36	0.08	1.09
	11.0	0.17	1.55

Acuratetea. Au fost procesate 40 de probe de la subiecti uman, folosind aceasta metoda, in comparatie cu o metoda HPLC automata (Toshoh), obtinand un coeficient de corelatie de 0.988 si o ecuatie de regresie $y = 1.050x - 0.481$ ($S_{xy}=0.332$)

- **Interferenta.**

Nu interfera: Bilirubina (50 mg/dL), acidul ascorbic (50 mg/dL), trigliceridele (2000 mg/dL), carbamylated Hb (7.5 mmol/L), Hb acetilataHb (5.0 mmol/L), uremia si intermediarii instabili (baza Schiff). **Nu interfera: variantele de hemoglobina** HbA2, HbC si HbS. Nu a fost studiat efectul altor hemoglobine rare (de ex HbE).

Alte substante sau droguri pot interfera. Detalii in sursa bibliografica¹¹.

LIMITARI

1. Rezultatele pot fi influentate de: dependenta de opiacee, intoxicatiile cu plumb, alcoolism, doze mari de aspirina⁶⁻⁹.
2. Nivelele crescute de HbF, pot conduce la subestimarea nivelului de HbA1c¹¹.

NOTE

1. HbA1c in sange integral recoltat pe EDTA este stabil 1 saptamana la 2-8°C.
2. Se pot folosi tuburi de sticla sau plastic.
3. Aceasta metoda poate fi folosita cu diverse aparate. Orice aplicatie (metoda) aplica pe un aparat va trebui validata pentru a demonstra ca rezultatele intrunesc caracteristicile de performanta ale metodei. Este recomandat ca validarea aparatului sa fie facuta periodic. Pentru orice intrebare legata de aplicatie, contactati distribuitorul.
4. In utilizarea HbA1c pentru monitorizarea pacientilor diabetici, rezultatele trebuie interpretate doar individual. Aceasta inseamna ca pacientul trebuie monitorizat fata de el insusi. Exista o intarziere de 3-4 saptamani pana cand HbA1c reflecta modificarile in valorile glucozei sangvine.
5. Diagnostic clinic nu trebuie sa se bazeze doar pe rezultatele unui singur test, dar trebuie sa tina seama de toate rezultatele de laborator si toate semnele clinice.
6. Limita linearitatii depinde de raportul proba/reactiv utilizat, cat si de analizorul folosit. Va fi mai mare prin scaderea descreterea volumului de proba, dar si sensibilitatea va scadea proportional.

BIBLIOGRAFIE

1. Trivelli LA et al. *New Engl J Med* 1971; 284: 353.
2. Gonen B and Rubinstein AH. *Diabetology* 1978; 15: 1.
3. Gabby KH, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 44: 859.
4. Bates HM. *Lab Mang* 1978; vol 16.
5. Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, Philadelphia WB. Saunders Company 1999: 794-795.
6. Little RR, et al. *Clin Chem* 1986;32: 358-360.
7. Fluckiger, R et al. *New Eng J Med* 1981; 304: 823-827.
8. Nathan DM, et al. *Clin Chem* 1989; 35: 93-97.
9. Engbaek F, et al. *Clin Chem* 1989; 35: 93-97.
10. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). *Diabetes Care* 2001; Suppl 1: S33-S55.
11. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*. 3th ed. AACC Press (1997).

T3155-01/0903 R1.ing Romanian version 09.2009
www.balmed.ro