

## ITALIANO

SOLO PER USO PROFESSIONALE

### USO PREVISTO

Il dosaggio HbA1c è un dosaggio immunoturbidimetrico per la determinazione quantitativa dell'emoglobina A1c (HbA1c) in percentuale nel sangue intero umano su analizzatori chimici clinici. Le misurazioni di HbA1c in percentuale sono utilizzate per monitorare il controllo glicemico a lungo termine nei pazienti diabetici.

### RIEPILOGO


L'HbA1c si forma per reazione del glucosio con il gruppo amminico N-terminale della catena beta dell'emoglobina. Il Gruppo di Ricerca dello studio Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) ha documentato nei precedenti 2-3 mesi una correlazione fra l'HbA1c in percentuale e i livelli glicemici medi<sup>1</sup>. Lo studio DCCT ha inoltre dimostrato che il controllo a lungo termine del diabete può prevenire complicanze, quali malattie cardiovascolari, retinopatia, nefropatia e neuropatia.

La misurazione dell'HbA1c in percentuale è il metodo d'elezione per monitorare la terapia dei pazienti diabetici<sup>2,3</sup>.

### PRINCIPIO

Il dosaggio Axis-Shield HbA1c sfrutta l'interazione fra l'antigene e l'anticorpo per determinare direttamente la concentrazione di HbA1c (%) nel sangue intero. I campioni di sangue intero vengono trattati con Diluyente per Lisi per lisare i globuli rossi. Il campione lisato viene poi incubato con microparticelle di lattice (Reag. 1). L'emoglobina e l'HbA1c si legano alle microparticelle. Quando viene aggiunto l'anticorpo anti-HbA1c (monoclonale murino) (Reag. 2), si forma il complesso lattice-HbA1c-anticorpo. La quantità di agglutinazione viene misurata con metodo turbidimetrico ed è proporzionale alla quantità di HbA1c legata sulla superficie delle microparticelle.

### COMPONENTI DEL KIT


<b>REAG 1</b>	1 x 40,8 mL	Microparticelle di lattice 0,13%, tampone, stabilizzatori. <b>PRONTO PER L'USO</b>	
<b>REAG 2</b>	1 x 17,1 mL	Anticorpo murino anti-HbA1c umana (monoclonale) 0,04 mg/mL, IgG anti-topo (policonale) 0,06 mg/mL, tampone, stabilizzatori (Proclin 300) <b>PRONTO PER L'USO</b> <b>N.B. ATTENZIONE</b>	
<b>LYSIS DILUENT</b>	4 x 60,0 mL	Tampone, stabilizzatori (sodio azide, <0,01%). <b>PRONTO PER L'USO</b>	

### MATERIALI E ATTREZZATURE RICHIESTE MA NON FORNITE

- Attrezzature di laboratorio in generale
- Acqua distillata o da osmosi inversa
- Kit di Calibratori Axis-Shield HbA1c, codice prodotto FHHBA300
- Kit di Controlli Axis-Shield HbA1c, codice prodotto FHHBA200

### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. **IVD** Per uso diagnostico in vitro.
2. Tutti i materiali di scarto devono essere smaltiti conformemente alle linee guida locali.
3. Il Diluyente per Lisi contiene sodio azide, che può reagire con le tubature in piombo o rame formando azidi metallici altamente esplosivi. Per lo smaltimento, far defluire i materiali con abbondante acqua per impedire la formazione di azidi.
4. Le schede tecniche di sicurezza dei materiali possono essere richieste ad Axis-Shield.

  <b>REAG 2</b>  <b>ARREZIONE</b>	<b>ATTENZIONE</b>	
	<b>E</b>	Provoca irritazione cutanea. Può provocare una reazione allergica cutanea. Provoca grave irritazione oculare.
	<b>PREVENZIONE</b>	Lavare accuratamente braccia dopo l'uso. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
	<b>RISPOSTA</b>	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. In caso di irritazione della pelle: consultare un medico. Togliere di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
	H315 –	
	H317 –	
	H319 –	
	P264 –	
	P280 –	
	P305+351+33 –	
	P332+313 –	
	P362 –	

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

#### Stabilità del kit aperto

- Diluyente per Lisi:

Stabile per 60 giorni a 2-8 °C dopo l'apertura iniziale. Durante l'uso, il prodotto non deve essere conservato a temperatura ambiente per una durata superiore a 30 ore.

- Reag. 1 e Reag. 2:

Stabili se conservati a bordo di un analizzatore refrigerato per una durata massima di 28 giorni, a condizione che vengano evitate fonti di contaminazione. Se i reagenti vengono rimossi dall'analizzatore, conservarli ad una temperatura di 2-8 °C. Dopo 28 giorni, i reagenti devono essere smaltiti.

#### Stabilità del kit non aperto

Tutti i componenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta a 2-8 °C.

I reagenti non devono essere congelati.

#### Note sulla manipolazione e sulla procedura

- Conservare i componenti del kit a 2-8 °C.
- I reagenti sono forniti pronti per l'uso.
- Non utilizzare oltre la data di scadenza.
- **NON CONGELARE I REAGENTI.**
- I reagenti devono essere conservati ad una temperatura di 2-8 °C dopo l'uso se non possono essere conservati a bordo dello strumento.
- Non mescolare i reagenti di numeri di lotto diversi.
- Utilizzare un nuovo puntale per pipetta monouso per ogni reagente o campione manipolato per evitare la contaminazione dei reagenti.
- I reagenti devono essere privi di particelle e devono essere smaltiti se diventano torbidi.

#### Indicazioni di deterioramento

La presenza di torbidità o precipitazione in un qualsiasi componente del kit è segno di deterioramento, quindi il componente deve essere eliminato. Anche valori esterni al range accettabile raccomandato per i controlli Axis-Shield HbA1c possono essere indice di instabilità dei reagenti, quindi i risultati associati a tali controlli non sono validi. Occorre analizzare di nuovo i campioni.

### PRELIEVO, MANIPOLAZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

#### Prelievo e manipolazione

- Per il prelievo e la preparazione dei campioni utilizzare esclusivamente provette o recipienti di prelievo adeguati.
- Solo i campioni elencati sono stati testati e riscontrati idonei per l'uso:
  - Dipotassio EDTA (K2-EDTA)
  - Litio eparina (Li-eparina)

- Non sono stati testati per l'uso altri tipi di provette per il prelievo dei campioni.
- Non utilizzare campioni nei seguenti stati: inattivati dal calore, in pool, manifestatamente contaminati da microrganismi.
- Osservare cautela quando si manipolano i campioni dei pazienti per impedirne la contaminazione crociata. Si consiglia l'uso di pipette o puntali per pipette monouso. Eliminare le bolle d'aria con un bastoncino applicatore prima di eseguire l'analisi. Utilizzare un nuovo bastoncino applicatore per ogni campione per impedire la contaminazione crociata.

#### Preparativi per l'analisi

- Per la processazione dei campioni seguire le istruzioni fornite dal produttore delle provette di prelievo.
- Tutti i campioni di origine umana devono essere considerati potenzialmente infettivi. Si raccomanda di manipolare questi materiali in conformità alle linee guida locali/nazionali sulle procedure di sicurezza nei laboratori.
- Campioni freschi/non congelati:
  - Non centrifugare i campioni freschi/non congelati.
  - I campioni devono essere accuratamente miscelati prima dell'uso.
- Campioni congelati:
  - Scongelerare i campioni per almeno 30 minuti.
  - Miscelare accuratamente i campioni scongelati capovolgendo le provette 4 volte.
  - Ispezionare visivamente i campioni. Se si osservano strati di vario tipo, continuare a miscelare i campioni finché non sono visibilmente omogenei.
  - Per garantire la coerenza dei risultati, i campioni congelati e scongelati devono essere trasferiti in provette per centrifuga e centrifugati a  $\geq 10.000$  RCF (Relative Centrifugal Force, forza centrifuga relativa) per 5 minuti prima di eseguire l'analisi.

#### Preparazione manuale dell'emolizzato

Per determinare il livello di HbA1c, occorre preparare un emolizzato per ogni campione:

- Dispensare 1 mL del Diluente per Lisi in provette opportunamente etichettate.  
Nota: possono essere utilizzate provette in plastica o vetro di adeguate dimensioni.
- Aggiungere 10  $\mu$ L del campione di sangue intero miscelato nelle provette con reagente per lisi opportunamente etichettate.
- Miscelare accuratamente su vortex a bassa velocità per 30 secondi.
- Lasciare stabili i campioni per 2 minuti finché non appare evidente analisi completa.
- Chiudere il flacone del Diluente per Lisi subito dopo l'uso.

#### Conservazione e stabilità dei campioni

- I campioni di sangue intero sono stabili se conservati:
  - fino a 6 ore a temperatura ambiente
  - fino a 5 giorni a 2-8 °C o fino a 14 giorni a -20 °C
  - Evitare più di un ciclo di congelamento/scongelo.
- I lisati (emolizzati) sono stabili se conservati:
  - fino a 6 ore a temperatura ambiente
  - fino a 5 giorni a 2-8 °C
  - fino a 3 settimane a -20 °C
  - Evitare più di un ciclo di congelamento/scongelo.
  - Se la conservazione avviene a bordo dello strumento, non ritardare l'analisi di oltre 2 ore.

#### PROCEDURA DEL DOSAGGIO

- Programmare lo strumento utilizzando il protocollo idoneo specifico dello strumento. Consultare la sezione "Procedura analitica".
- Caricare i reagenti e i campioni in base ai requisiti dello strumento.

#### STANDARDIZZAZIONE

Il dosaggio Axis-Shield HbA1c è tracciabile secondo gli standard di riferimento dell'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC, Federazione Internazionale di Chimica Clinica).

#### CALIBRAZIONE

Per la calibrazione del dosaggio utilizzare i Calibratori Axis-Shield elencati nella sezione "Materiali richiesti".

I valori dei Calibratori sono specifici del lotto, come indicato sulle etichette.

#### Frequenza di calibrazione:

La calibrazione è stabile fino a 14 giorni.

È necessaria una ricalibrazione anche dopo aver cambiato il lotto di reagenti, nel caso in cui i valori dei controlli siano esterni al range oppure se richiesto dalle seguenti procedure del controllo di qualità.

#### CONTROLLO DI QUALITÀ

Per il controllo di qualità utilizzare i Controlli Axis-Shield elencati nella sezione "Materiali richiesti". La manutenzione e la calibrazione dello strumento

devono essere effettuate secondo le istruzioni del manuale d'uso dell'analizzatore specifico.

Gli operatori devono aver compreso le istruzioni di questo dosaggio, in particolare le sezioni "Avvertenze e precauzioni", "Manipolazione dei campioni" e "Limitazioni della procedura". Si raccomanda di utilizzare i Controlli e i Calibratori Axis-Shield HbA1c in duplicato ogni giorno d'uso del dosaggio.

I limiti di controllo devono essere stabiliti individualmente da ogni laboratorio e in conformità alle procedure del controllo di qualità per laboratori e/o alle linee guida locali o governative.

#### RISULTATI

##### Unità di misura

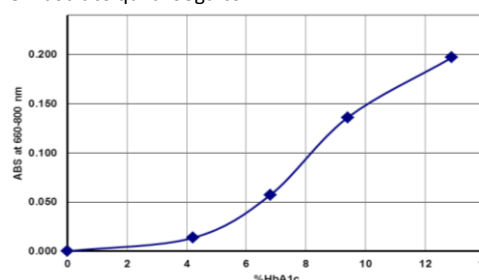
L'unità di misura predefinita per il risultato del dosaggio è %HbA1c.

Per unità di misura alternative, si possono utilizzare calcoli manuali secondo le seguenti equazioni:

- da NGSP %HbA1c a IFCC mmol/mol:  $[\%HbA1c \times 10,93] - 23,50$

- da IFCC mmol/mol a NGSP %HbA1c:  $[\text{mmol/mol} \times 0,09148] + 2,152$

I risultati di HbA1c vengono calcolati con un metodo di riduzione dei dati per mezzo di spline per generare una curva di calibrazione. Un esempio di curva è illustrato qui di seguito:



#### RANGE DI MISURAZIONE

Il range di misurazione analitica del dosaggio è l'intervallo fra la sensibilità funzionale del dosaggio e la concentrazione (%HbA1c) del Calibratore massimo. Il range del dosaggio Axis-Shield HbA1c è 4,0% - 13,0% (\*) HbA1c. (\*) I valori variano in funzione dei valori target specifici dei lotti di calibratori, quindi occorre tenerne conto quando si definiscono le impostazioni dello strumento per i limiti del range di dosaggio. Il range indicato si basa su un tipico valore elevato del calibratore.

I campioni oltre il range di misurazione **NON DEVONO essere diluiti**. Questi campioni devono essere analizzati con metodi alternativi.

#### VALORI ATTESI

Per monitorare i pazienti diabetici, si raccomanda di personalizzare gli obiettivi glicemici secondo le raccomandazioni attuali di una società professionale di diabetologia<sup>4\*</sup>. Nella seguente tabella sono riassunte le raccomandazioni dell'American Diabetes Association (ADA, Associazione Americana per il Diabete).

Valore HbA1c	Obiettivo glicemico
< 8% HbA1c (64 mmol/mol)	Meno rigido
< 7% HbA1c (53 mmol/mol)	In generale (donne adulte non in gravidanza)
< 6,5% HbA1c (48 mmol/mol)	Più rigido

Secondo le raccomandazioni ADA, i pazienti nel range 5,7 - 6,4% HbA1c (39 - 46 mmol/mol) sarebbero nella categoria di aumentato rischio per il diabete<sup>4</sup>.

#### LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Le emoglobinopatie possono interferire con l'analisi dell'emoglobina glicata. In questo dosaggio sono state testate varianti di emoglobina comuni. Consultare la sezione "Specificità".
- È possibile che altre sostanze e/o altri fattori non testati (consultare la sezione "Interferenze") possano interferire con il dosaggio.
- Questo dosaggio:
  - non è previsto per la diagnosi del diabete.
  - non deve essere utilizzato per sostituire il test giornaliero delle urine e dei livelli glicemici effettuato a domicilio.
  - non è previsto per l'analisi di campioni di pazienti con livelli di emoglobina totale < 8 g/dL, poiché i risultati vengono influenzati negativamente.
  - non è previsto per l'analisi di campioni di pazienti affetti da condizioni che causano una ridotta sopravvivenza dei globuli rossi, quali anemia emolitica o altre malattie emolitiche, significativa perdita ematica acuta o cronica o gravidanza.

## CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI:

I dati rappresentativi forniti in questa sezione sono stati generati da test effettuati sull'analizzatore ADVIA 2400; i risultati dei singoli laboratori possono variare.

Non sono state verificate le prestazioni di altre applicazioni strumentali, pertanto l'operatore è tenuto a verificarle personalmente.

## SENSIBILITÀ FUNZIONALE

È stato condotto uno studio per valutare le prestazioni del dosaggio a bassi livelli di HbA1c. Sono stati testati tre campioni di sangue intero a basso livello (n=20) in 3 diverse occasioni utilizzando 3 lotti di Reagenti Axis-Shield HbA1c. Sono state ottenute per i campioni concentrazioni nel range da 2,9 a 4,6% HbA1c. La DS per tutti i campioni è stata <0,24% HbA1c.

La sensibilità funzionale del dosaggio Axis-Shield HbA1c è pari a 4,0% HbA1c.

## PRECISIONE DEL DOSAGGIO

L'imprecisione totale del dosaggio è stata calcolata in uno studio esterno utilizzando controlli e campioni di sangue intero umano. Tutti i campioni sono stati analizzati in duplicato (n=2) in 2 momenti separati del giorno per 20 giorni utilizzando 3 lotti di Reagenti Axis-Shield HbA1c. Nella seguente tabella sono riassunti i dati minimi di prestazione osservati per i campioni utilizzando un solo lotto di reagenti.

Campione	n	Media (%)	Imprecisione totale	
			DS (%HbA1c) (IC al 95%)	CV% (IC al 95%)
Controllo basso	80	6,17	0,218 (0,177 - 0,283)	3,5 (2,9% - 4,6%)
Controllo alto	80	9,97	0,587 (0,484 - 0,74)	5,9 (4,9% - 7,5%)
Sangue umano #1	80	6,32	0,254 (0,207 - 0,329)	4,0 (3,3% - 5,2%)
Sangue umano #2	80	7,60	0,317 (0,273 - 0,378)	4,2 (3,6% - 5,0%)
Sangue umano #3	80	8,57	0,366 (0,313 - 0,441)	4,3 (3,6% - 5,1%)

## LINEARITÀ

È stato condotto uno studio di linearità con diluizioni seriali di un campione ad alta %HbA1c con un campione a bassa %HbA1c. I test sono stati eseguiti utilizzando 3 lotti di Reagenti Axis-Shield HbA1c.

Il dosaggio Axis-Shield HbA1c ha dimostrato una linearità di 5,5 - 11,0% HbA1c.

## METODO DI COMPARAZIONE

È stato eseguito uno studio di correlazione utilizzando campioni di sangue intero umano nel range di dosaggio. I campioni sono stati analizzati utilizzando 3 lotti di Reagenti Axis-Shield HbA1c e due dosaggi HbA1c comunemente disponibili in commercio (un immunodosaggio e un metodo di elettroforesi capillare). I campioni sono stati valutati utilizzando il metodo a regressione di Passing-Bablok e la correlazione è stata valutata mediante il metodo a regressione di Pearson (r). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

- Confronto con il metodo di immunodosaggio

Lotto	Range del campione (%HbA1c)	n	Coefficiente di correlazione (r)	Pendenza (IC al 95%)	Intercetta (IC al 95%)
1	4,2% - 12,6%	154	0,968	0,99 (0,96 - 1,02)	0,76 (0,58 - 0,95)
2	4,2% - 12,6%	154	0,968	0,94 (0,91 - 0,99)	1,00 (0,72 - 1,27)
3	4,2% - 12,6%	154	0,976	0,98 (0,95 - 1,02)	0,77 (0,52 - 0,99)

- Confronto con il metodo di elettroforesi capillare

Lotto	Range del campione (%HbA1c)	n	Coefficiente di correlazione (r)	Pendenza (IC al 95%)	Intercetta (IC al 95%)
1	4,4% - 13,0%	157	0,973	0,95 (0,92 - 0,98)	0,45 (0,25 - 0,66)
2	4,4% - 13,0%	158	0,964	0,92 (0,88 - 0,96)	0,59 (0,28 - 0,91)
3	4,4% - 13,0%	158	0,976	0,94 (0,90 - 0,98)	0,54 (0,27 - 0,80)

## INTERFERENZE

I composti di seguito elencati sono stati aggiunti a due campioni di sangue intero umano con diversi livelli di %HbA1c (6-7% e 8-9% HbA1c) per valutare la potenziale interferenza nel dosaggio rispetto ai campioni di riferimento. Nessuna delle sostanze ai livelli indicati ha mostrato interferenza nel dosaggio Axis-Shield HbA1c come risulta da una deviazione < ±10% della concentrazione: Axis-Shield

Potenziale sostanza interferente	Massimo livello del test senza interferenza
Bilirubina (coniugata e non coniugata)	38 mg/dL
Trigliceridi	1000 mg/dL
Fattore Reumatoide	600 U/mL
Proteine totali	14 g/dL
Acido ascorbico	50 mg/dL

Si raccomanda cautela durante l'analisi di campioni di pazienti che hanno ricevuto preparati a base di anticorpi monoclonali murini a fini diagnostici o terapeutici, in quanto tali campioni possono contenere anticorpi anti-topo (HAMA). I campioni contenenti HAMA possono dare risultati inattesi se analizzati con questo dosaggio così come con qualsiasi altro dosaggio che utilizza anticorpi murini.<sup>5</sup>

## SPECIFICITÀ

### Derivati dell'emoglobina (Hb)

La frazione labile dell'emoglobina, l'emoglobina acetilata e l'emoglobina carbamilata non interferiscono su questo dosaggio.

Due campioni di sangue intero umano con concentrazione %HbA1c di 6-7% e 8-9%HbA1c sono stati testati in presenza di concentrazioni di prova fisiologiche o raccomandate di cianato di sodio, acetilsalicilato, glucosio e urea e non sono state riportate distorsioni come risulta da una deviazione massima della concentrazione di < ±10% rispetto ai campioni di riferimento.

### Varianti di emoglobina

Le seguenti varianti di emoglobina non interferiscono sul dosaggio: HbS, HbC, HbD, HbA2, HbE e HbF. Non sono state testate altre varianti nel dosaggio.

In linea di principio, occorre osservare cautela durante l'interpretazione dei risultati di HbA1c di pazienti con elevati livelli di varianti di emoglobina.







## BIBLIOGRAFIA

1. Gruppo di ricerca del Diabetes Control and Complications Trial. Effetto del trattamento intensivo del diabete sullo sviluppo e la progressione di complicanze a lungo termine nel diabete mellito insulino-dipendente. *N Eng J Med* 1993;329(14):977-86
2. Lester E. The clinical value of glycated haemoglobin and glycated plasma proteins. *Ann Clin Biochem* 1989;26: 213-9.
3. Goldstein DE, Little RR, Weidmeyer H-M, et al. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 1986; 32(10):B64-B70.
4. American Diabetes Association. Position Statement: Standards of Medical Care in Diabetes - 2012. In: *Diabetes Care* 2012;35 (Suppl 1):S11-S63.
5. Primus FJ, Kelley EA, Hansen HJ, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem* 1988;34(2):261-264.

## PROCEDURA ANALITICA TIPICA

Volume di sangue intero lisato:	4 µL
Volume reagente 1:	150 µL
Tempo di incubazione:	5 minuti
Volume reagente 2:	60 µL
Tempo di incubazione:	5 minuti
1° tempo di lettura:	20 secondi (15 -25 secondi)
2° tempo di lettura:	300 secondi (270-330 secondi)
Lunghezze d'onda:	660 nm (640-680 nm)
Temperatura:	+ 37 °C
Tipo di reazione:	End point
Tipo di calcolo:	Spline
Modello di calibrazione:	Multi-point

Consultare il manuale d'uso specifico dello strumento per le istruzioni di programmazione dello strumento.

<b>REF</b>	Codice prodotto
<b>IVD</b>	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
<b>LOT</b>	Numero di lotto
	Numero di test
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Fabbricante
<b>GTIN</b>	Numero GTIN
	Da utilizzare entro
	Conservare a 2-8 °C
	ATTENZIONE
<b>REAG 1</b>	Reagente 1
<b>REAG 2</b>	Reagente 2
<b>LYSIS DILUENT</b>	Diluyente per Lisi



Axis-Shield Diagnostics Ltd,  
The Technology Park,  
Dundee, DD2 1XA  
United Kingdom  
Tel: +44 (0) 1382 422000  
Fax: +44 (0) 1382 422088



**EC Authorized Representative:**

Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)  
Schiffgraben 41,  
30175 Hannover,  
Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630  
Fax: + (49) 511 6262 8633

RPBL1087/R3  
Ver 2019/09