

HbA1c Turbiquest

Instrucciones de Uso

Ref.: 385

Finalidad . Sistema para la determinación cuantitativa de la Hemoglobina A1c (HbA1c) en muestras de sangre total y concentrado de hematíes. Solo para uso diagnóstico in vitro.

Uso profesional.

[Solamente para uso diagnóstico in vitro.]

Principio . Todas las hemoglobinas presentes en la muestra se unen a la superficie de las partículas de látex (Reactivo 1). La adición de un anticuerpo monoclonal de ratón anti HbA1c humana (Reactivo 2) promueve la formación del complejo látex HbA1c anticuerpo anti HbA1c. Un segundo anticuerpo presente en el Reactivo 2 (anticuerpo monoclonal antiIgG de ratón) produce la aglutinación de este complejo. La intensidad de la aglutinación, medida en absorbancia, es proporcional a la cantidad de HbA1c presente en la muestra. El valor de HbA1c se obtiene a través de la curva de calibración.

Características del sistema . El producto HbA1c Turbiquest Labtest es un método inmuno turbidimétrico fácilmente aplicable a analizadores automáticos bioquímicos capaces de medir absorbancias entre 600 a 660 nm. La medición se realiza directamente sin la necesidad de la determinación de la hemoglobina total, utilizando solamente un canal del analizador automático. Además de eso, los resultados se obtienen a través de la curva de calibración, evitando la realización de cálculos adicionales. Todas estas características incorporan mayor practicidad y seguridad al usuario, además de propiciar mayor agilidad y rapidez al proceso analítico.

El método está certificado por el National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) para TFB, Inc., con trazabilidad al método de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) utilizado en el estudio Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)³.

Metodología . Inmunturbidimetría.

Reactivos

1. [R1] - Reactivo 1 - Almacenar entre 2-8°C.

Listo para su uso. Contiene partículas de poliestireno y azida sódica $\leq 0,05\%$.

2. [R2] - Reactivo 2 - Almacenar entre 2-8°C.

Listo para su uso. Contiene tampón 0,3% pH 6,0, anticuerpo monoclonal de ratón anti-HbA1c humana, anticuerpo policlonal anti-IgG de ratón y preservativo.

3. [R3] - Reactivo Hemolizante - Almacenar entre 2-8°C.

Listo para su uso. Contiene azida sódica $\leq 0,05\%$.

Los reactivos no abiertos, si se almacenan en las condiciones especificadas, son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Durante el manejo, los reactivos están sujetos a contaminaciones de naturaleza química y microbiana que pueden causar reducción de la estabilidad.

Material necesario y no provisto

1. Analizador capaz de medir con exactitud la absorbancia entre 600 y 660 nm.

2. Calibradores Calibra HbA1c Turbiquest Ref. 386 y controles Glicotrol Ref. 303 de Labtest.

Muestra

Se debe crear un Procedimiento Operacional Estándar (POE) que establezca procedimientos adecuados para la toma, preparación y almacenamiento de la muestra. Destacamos que los errores debidos a la muestra pueden ser mucho mayores que los errores ocurridos durante el procedimiento analítico.

Concentrado de hematíes o sangre total pueden utilizarse. Se debe recoger la sangre con EDTA o fluoruro de sodio. El analito es estable por 7 días entre 2-8°C y por lo menos 1 año a temperatura igual o inferior a 70°C negativos.

Como ningún test conocido puede asegurar que las muestras de sangre no transmiten infecciones, todas ellas deben ser consideradas como potencialmente infecciosas. Por lo tanto, al manipularlas, se deben seguir las normas establecidas para bioseguridad.

Para descartar los reactivos y el material biológico, sugerimos aplicar las normas locales, estatales o federales de protección ambiental.

Interferencias

Concentraciones de bilirrubina conjugada hasta 30 mg/dL; bilirrubina no conjugada hasta 30 mg/dL; ácido ascórbico hasta 50 mg/dL no producen interferencias significativas.

Se pueden obtener resultados inconsistentes en pacientes que presentan las siguientes condiciones: uso de opiáceos, envenenamiento por plomo, alcoholismo e ingestión de grandes cantidades de ácido acetilsalicílico.

La fracción pre - HbA1c (fracción lábil o inestable) no es detectada y, por lo tanto, no interfiere en la determinación de la HbA1c.

Valores elevados de hemoglobina fetal en la muestra producen interferencia negativa. La hemoglobina A2 y la hemoglobina S pueden aumentar la inexactitud de los resultados.

Véase notas 1 y 2.

Están disponibles aplicaciones para sistemas automáticos.

Preparación de la muestra . Preparar un hemolizado para cada muestra.

Concentrado de hematíes

1. Centrifugar la sangre total durante 2 minutos a 2000 rpm;
2. En un tubo pipetear 0,5 mL del Reactivo Hemolizante y 0,005 mL de Concentrado de hematíes;
3. Revolver fuertemente durante 10 segundos y esperar 5 minutos o hasta que la lisis completa sea evidente (ausencia de turbidez);
4. Se puede almacenar el hemolizado por un período de 10 días entre 2-8°C.

Sangre total

1. En un tubo pipetear 0,5 mL del Reactivo Hemolizante y 0,010 mL de la muestra de sangre total homogeneizada;
2. Revolver fuertemente durante 10 segundos y esperar 5 minutos o hasta que la lisis completa sea evidente (ausencia de turbidez);
3. Se puede almacenar el hemolizado por un período de 10 días entre 2-8°C.

Parámetros para los Analizadores Automáticos

Tipo de Reacción	Punto final
Dirección de la Reacción	Creciente
λ de Onda primario	600 a 660 nm
λ de Onda secundario	800 nm
Temperatura	37°C
Calibración	5 puntos (Calibra HbA1c Turbiquest - Ref. 386)
Modelo de Calibración*	No lineal (Spline, Exponencial)
Volumen de Muestra**	4 μ L
Volumen del Reactivo 1**	150 μ L
Incubación a 37°C	300 segundos
Volumen del Reactivo 2**	50 μ L
Absorbancia 1	Entre 60 y 90 segundos después de la adición del Reactivo 2
Absorbancia 2	300 segundos después de la adición del Reactivo 2

*La definición del modelo de calibración debe ser adecuada a cada modelo de equipo. En caso de duda, entre en contacto con el servicio de apoyo al consumidor.

**Los volúmenes de la muestra y de los reactivos pueden ser cambiados proporcionalmente sin perjuicio para el desempeño del test, además el procedimiento de cálculo será mantenido inalterado. En caso de reducción de los volúmenes es fundamental que sea observado el volumen mínimo necesario para la lectura fotométrica.

Calibración . El método está certificado por el National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) para TFB, Inc., con trazabilidad al método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) utilizado en el estudio de Diabetes control and Complications Trial (DCC³).

Calibración de 5 puntos

Utilizar el producto Calibra HbA1c Turbiquest - Ref. 386.

Punto 0: utilizar el calibrador 0.

Punto 1 al 4: utilizar los calibradores 1, 2, 3 y 4.

Intervalo de calibraciones

Cuando indica el control interno de la calidad;

Si se utiliza un nuevo lote de reactivos.

Intervalo operativo . El intervalo operativo de medición es del 3,0% al 13,0%. Resultado superior al 13,0% puede reportarse como mayor que 13,0% o diluir la muestra 1:3 utilizando como diluyente otra muestra con concentración de HbA1c menor que 6% (50 μ L del hemolizado de la muestra con alta concentración y 100 μ L del hemolizado de la muestra diluyente).

Determinar la concentración de HbA1c en la mezcla y calcular la concentración de HbA1c de la muestra elevada como se describe a continuación:

$HbA1c(\%) = [HbA1c(\%) \text{ en la mezcla } \times n] - [HbA1c(\%) \text{ en la muestra diluyente } \times (n - 1)]$

n = factor de dilución de la muestra

Ejemplo

$$[8,3 \times 3] - [4,6 \times (3 - 1)] = 24,9 - 9,2 = 15,7\%$$

Control interno de la calidad . Al mismo tiempo se debe mantener un sistema definido para monitorear la variabilidad analítica que se produce en todo el sistema de medición.

Se debe utilizar los materiales de control para monitorizar la inexactitud de la medición y desviaciones de la calibración. Se sugiere que las especificaciones para el coeficiente de variación y el error total se basen en los componentes de la variación biológica (VB)⁵ o en las especificaciones propuestas por el NGSP⁶.

Valores esperados para individuos no diabéticos .

Valores entre 4,0% a 6,0%.

Para individuos diabéticos bajo control glucémico.

Niño (rango prepuberal)	< 8,0%
Niño (rango puberal)	< 8,5%
Adulto	< 7,0%
Anciano	< 8,0%

Los valores de los individuos diabéticos fueron determinados a partir de los resultados de estudios clínicos prospectivos y aleatorios, y se correlacionan con el riesgo significativamente menor de desarrollo de complicaciones de la Diabetes Mellitus^{3,4}.

Características del rendimiento⁷

Estudios de recuperación . En dos muestras con concentraciones de HbA1c iguales al 6,2% y 9,4% se han añadido cantidades del analito, en el que se obtiene los siguientes resultados:

Concentración (%)				Recuperación (%)
Inicial	Añadida	Esperada	Encontrada	
6,2	0,9	7,1	7,2	101,4
9,4	1,0	10,4	10,6	101,9

Utilizando el error promedio del 1,7%, el error sistemático proporcional estimado es igual al 0,099% para muestra con concentración del 6,0% y 0,167% para muestra con concentración del 10,0%.

Comparación de métodos . Se ha contrastado el método propuesto con el método HPLC, y se obtuvo los siguientes resultados:

	Método Contrastivo	Método Labtest
Número de muestras	50	50
Ecuación de regresión	Método Labtest (%) = 0,9844 x Contrastivo + 0,039	
Coefficiente de correlación	0,994	

Con la utilización de la ecuación de regresión, el error sistemático (BIAS) estimado es igual al 0,85% y 1,18% para muestras del 5,5 y 10,2%, respectivamente. Este error es inferior al error sistemático de la especificación deseable basada en los componentes de la VB⁵ que es ≤1,50%.

Estudios de precisión . Se han realizado los estudios de precisión con el uso de tres muestras con concentraciones iguales al 5,5%, 7,1% y 10,2%.

Repetitividad - imprecisión intra-ensayo

	N	Media (%)	DE	CV (%)
Muestra 1	15	5,5	0,034	0,62
Muestra 2	15	7,1	0,032	0,45
Muestra 3	15	10,2	0,037	0,36

Reproducibilidad - imprecisión total

	N	Media (%)	DE	CV (%)
Muestra 1	15	5,5	0,038	0,70
Muestra 2	15	7,1	0,047	0,66
Muestra 3	15	10,2	0,035	0,34

La imprecisión encontrada cumple con la especificación deseable para imprecisión total basada en los componentes de la VB⁵ que es ≤0,93%.

Sensibilidad metodológica o analítica . Límite de detección: 0,095%.

Equivala a 3 desviaciones estándar (DE) obtenido a partir de 10 mediciones de una muestra con concentración de HbA1c igual al 3,0%.

Significado clínico . La hemoglobina humana del adulto es frecuentemente constituida de HbA (97%), HbA2 (2,5%) y HbF (0,5%). El análisis cromatográfico de la HbA identifica una gama de hemoglobinas que migran más rápido que la HbA0: HbA1a, HbA1b y HbA1c, que fueron inicialmente llamadas hemoglobinas rápidas². Posteriormente, se observó que estas hemoglobinas rápidas están adheridas a algunos azúcares, siendo colectivamente nombradas de hemoglobinas glicadas o HbA1. La HbA1c es la fracción principal y corresponde a 80% de la HbA1. La HbA1c es formada por la unión no enzimática de la glucosa con la porción N-terminal valina (glicación) en cada cadena beta de la HbA, formando una base de Schiff inestable (pre-HbA1c, HbA1c lábil o inestable) que experimenta un reordenamiento irreversible (reordenamiento de Amadori), convirtiéndose en una cetamina estable².

La formación de hemoglobina glicada es continua e irreversible, y su nivel sanguíneo depende del tiempo de supervivencia del hematíe (cerca de 120 días) y de la concentración de glucosa en la sangre, visto que el hematíe es libremente permeable a la glucosa. La HbA1c corresponde aproximadamente 4% a 6% de la HbA total en individuos no diabéticos, y puede alcanzar a 20% en individuos diabéticos mal controlados. La cantidad de HbA1c es directamente proporcional a la concentración media de glucosa en la sangre durante las seis a ocho semanas precedentes y provee un criterio adicional para la evaluación del control glucémico.

La dosificación de HbA1c parece poseer capacidad de pronosticar el riesgo de desarrollo y progresión de las complicaciones crónicas de la diabetes³. Así, se debe medir de forma rutinaria la HbA1c en todos los pacientes con diabetes mellitus para evaluar el grado de control glucémico.

Según el "Posicionamiento Oficial - 2004 del Grupo Interdisciplinar de Estandarización de la Hemoglobina Glicada"⁴, se debe realizar la determinación de HbA1c al menos dos veces al año para todos los pacientes diabéticos y cuatro veces al año (a cada tres meses) para pacientes que han sido sometidos a cambio del esquema terapéutico o que no han alcanzado los objetivos recomendados con el tratamiento vigente⁴.

Los niveles de HbA1c no regresan a los valores esperados inmediatamente tras la reducción y estabilización de la concentración sanguínea de glucosa. Se necesita de aproximadamente ocho a diez semanas.

Pacientes con enfermedad hemolítica u otras condiciones que reducen la supervivencia de los hematíes (los estados hemorrágicos) pueden presentar resultados falsamente disminuidos de la HbA1c.

Anemia por deficiencia de hierro, vitamina B12 o ácido fólico puede causar resultados falsamente aumentados de HbA1c por aumentar la supervivencia de los hematíes.

La determinación de la HbA1c no tiene ningún valor en los pacientes que poseen hemoglobinopatías homocigóticas debido a ausencia de HbA. En estas situaciones se recomienda hacer la determinación de la fructosamina para evaluación del control glucémico.

Se puede utilizar la dosificación de HbA1c para pronosticar la diabetes mellitus de acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes¹.

Observaciones

1. El laboratorio clínico tiene como objetivo fornecer resultados exactos y precisos. La utilización de agua de calidad inadecuada es una causa potencial de errores analíticos. El agua desionizada o destilada utilizada en el laboratorio debe tener la calidad adecuada para cada aplicación. Así, para preparar reactivos y usar en las mediciones y para su uso en enjuague final de la vidrería, debe tener resistividad ≥ 1 megaohm.cm o conductividad ≤ 1 microsiemens/cm y concentración de silicatos $< 0,1$ mg/L. Cuando la columna desionizadora está con su capacidad saturada, se produce agua alcalina con liberación de varios iones, silicatos y sustancias con gran poder de oxidación o reducción que deterioran los reactivos en pocos días o incluso horas, alterando los resultados de modo imprevisible. Por lo cual es fundamental establecer un programa de control de la calidad del agua.

2. Para una revisión de las fuentes fisiopatológicas y medicamentosas de interferencia de los resultados y en la metodología se sugiere consultar Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3ª edición, Washington: AACC Press, 1990.

Referencias

1. American Diabetes Association. Diabetes Care 2004 27(suppl 1):S5-S10.
2. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia: Saunders Company 1994;980-986.
3. DCCT Research Group. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). N Eng J Med 1993; 329: 977-986.
4. Grupo Interdisciplinar de Padronização da Hemoglobina Glicada - A1c. 2004. www.sbpc.org.br (Menu: Comissões).

5. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Disponível em:

<http://www.seqc.es/es/Comisiones/18/9/102/Base_de_datos_de_Variacion_biologica_%7C_Comision_de_Calidad_Analitica_%7C_Comite_Cientifico/> (acesso em 02/2015).

6. Summary of NGSP Certification Categories. Disponível em: <<http://www.ngsp.org/prog/index.html>> (acesso em 01/2008).

7. Labtest: Datos de Archivo.

Presentación

Producto	Referencia	Contenido
HbA1c Turbiquest	385-1/20	R11 1 X 15 mL
		R12 1 X 5 mL
		R13 1 X 65 mL
	385-1/40	R11 1 X 30 mL
		R12 1 X 10 mL
		R13 1 X 130 mL
HbA1c Turbiquest Labmax 560/400	385-1/40	R11 1 X 30 mL
		R12 1 X 10 mL
		R13 1 X 130 mL

Informaciones al consumidor

[Términos y Condiciones de Garantía]

Labtest Diagnóstica garantiza el desempeño de este producto, dentro de las especificaciones, hasta la fecha de expiración indicada en los rótulos, siempre que los cuidados de utilización y almacenamiento indicados en los rótulos y en estas instrucciones, sean seguidos correctamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000

Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Customer Service | e-mail: customerservice@labtest.com.br

Edición: Agosto, 2015
Ref.: 260117

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reproducción bajo previa autorización

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Material Calibrador Material Calibrator Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrator Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control
	Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control
	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control
	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Uso veterinário Uso veterinário Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before		

Ref.: 140214 |