

HbA_{1c} Monlabtest®

Turbidimetría Látex.



IVD

Determinación cuantitativa de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) en sangre humana

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
Conservar a 2-8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Este método utiliza la interacción de antígeno y anticuerpo para determinar directamente HbA_{1c} en sangre total. La hemoglobina total y HbA_{1c} tienen la misma absorción inespecífica para las partículas de látex. Cuando se añade el anticuerpo monoclonal anti-HbA_{1c} (ratón) (R2), se forma el complejo latex-HbA_{1c}-anticuerpo HbA_{1c} de ratón. Se produce aglutinación cuando el anticuerpo policlonal IgG de cabra anti-ratón interacciona con el anticuerpo monoclonal. La cantidad de aglutinación es proporcional a la cantidad de HbA_{1c} absorbida en la superficie de las partículas de látex. La cantidad de aglutinación se mide como absorbancia. El valor de HbA_{1c} se obtiene de la curva de calibración.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A lo largo de la vida circulatoria de los hematíes, se forma continuamente hemoglobina A_{1c}, por la adición de glucosa al grupo N-terminal de la cadena beta de la hemoglobina. Este proceso, que es no-enzimático, refleja la exposición media de hemoglobina a glucosa durante un periodo prolongado. En un estudio clásico, Trivelli et al.1 mostró que la Hemoglobina A_{1c} se incrementa 2-3 veces en individuos con diabetes en comparación con individuos normales. Varios investigadores han recomendado que Hemoglobina A_{1c} sirve como indicador del control metabólico de diabéticos, ya que los niveles de Hemoglobina A_{1c} alcanzan valores normales para diabéticos en control metabólico. 2,3,4

La Hemoglobina A_{1c} se ha definido como la 'fracción rápida' de hemoglobina (HbA_{1a}, A_{1b}, A_{1c}) que eluye la primera en una cromatografía de columna con resinas de intercambio catiónico. La hemoglobina no-glicosilada, que consiste en la mayor parte de hemoglobina, se ha designado como HbA₀. Este procedimiento utiliza una reacción antígeno-anticuerpo para determinar directamente la concentración de HbA_{1c}.

REACTIVOS

R1	Latex 0,13%, Tampón, estabilizante.
R2	Anticuerpo monoclonal anti-HbA _{1c} (ratón) 0.05 mg/mL, anticuerpo policlonal IgG de cabra anti-ratón 0.08 mg/dL, tampón, estabilizantes.
R3 (Reactivo hemolizante)	Agua y estabilizantes
Opcional	Ref: MO-165061 calibrador HbA _{1c} . Calibradores HbA _{1c} (4). Ref: MO-165062 Control HbA _{1c} . Controles HbA _{1c} (2).

PRECAUCIONES

Todas las muestras humanas se deben tratar como potencialmente biopeligrosas. Por tanto se deben usar las precauciones universales de tratamiento de muestras (guantes, vestimenta de laboratorio, evitar producción de aerosoles, etc.).

PREPARACIÓN

R1, R2 y R3 están listos para su uso. Mezclar suavemente antes de usar.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad. R1 y R2 una vez abiertos son estables durante al menos 1 mes si se conservan a 2-8°C.

Hemoglobina A_{1c} en sangre total recogida con EDTA es estable durante una semana a 2-8°C.⁵

Indicadores de deterioro de los reactivos: Alteraciones en el aspecto físico de los reactivos o valores de los controles fuera del rango establecido.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatizable a 37°C para lecturas a 660 nm.

MUESTRAS

No es necesaria una preparación especial del paciente, ni condiciones de alimentación específicas. No se requiere de otros aditivos ni conservantes especiales aparte de anticoagulantes. Recoger la sangre venosa con EDTA usando técnicas asépticas.

Para determinar HbA_{1c}, se debe preparar un hemolizado para cada muestra:

1. Dispensar 1 mL de Reactivo hemolizante en tubos etiquetados: Calibrador, Control, pacientes, etc. Nota: Son válidos tubos de plástico o vidrio de tamaño apropiado.
2. Colocar 20 µL de sangre total bien mezclada en el tubo correctamente etiquetado. Mezclar.
3. Dejar reposar durante 5 minutos o hasta que sea evidente la lisis completa. Los hemolizados se pueden conservar durante 10 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Llevar el R1, el R2 y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
2. Condiciones de ensayo:
Longitud de onda: 660 nm
Temperatura: 37°C
Paso de luz de la cubeta: 1 cm
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
4. Pipetear en una cubeta:

R1 (µL)	360
Calibrador (0 a 4) o muestra (µL)	10

5. Mezclar e incubar 5 minutos a temperatura ambiente
 6. Pipetear en la misma cubeta:
- | | |
|---------|-----|
| R2 (µL) | 120 |
|---------|-----|
7. Mezclar y leer la absorbancia (A) a los 5 minutos de la adición del Reactivo R2.

MONLAB dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CÁLCULOS

Concentración HbA_{1c} (%)

Representar la absorbancia (A) obtenida frente a las concentraciones de HbA_{1c} de cada Calibrador (del 1 al 4). El porcentaje de HbA_{1c} en la muestra se calcula por interpolación de su absorbancia (A) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. MONLABTEST dispone de sueros control HbA_{1c} (Ref: MO-165062). **Los Controles, una vez reconstituidos, precisan de un tratamiento hemolizante antes de su uso.**

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

Valores recomendados: inferior a 6 % para no-diabéticos, inferior a 7% para control glicémico de persona con diabetes.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. En el uso de Hemoglobina A_{1c} para el control de pacientes diabéticos, los resultados se deben interpretar individualmente. Significa que el paciente se debe controlar frente a él mismo. Hay un intervalo de tiempo de 3-4 semanas antes que Hemoglobina A_{1c} refleje cambios en el nivel de glucosa en sangre.



CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Linealidad:** El rango de ensayo de Hemoglobina A1c es 2,0%-16,0%.
- Sensibilidad:** Se estudió el cambio de absorbancia a 660 nm para muestra salina y muestra de sangre total de una concentración conocida. Un cambio de absorbancia de 0,056 es aproximadamente equivalente a 1,0% HbA1c.

- Precisión:**

	Intraserie (n=20)			Interserie (n=20)		
	Media (g/dL)	5,970	8,490	12,210	5,945	8,335
SD	0,138	0,072	0,152	0,190	0,093	0,179
CV (%)	2,31	0,85	1,24	3,2	1,12	1,47

- Correlación:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con otro método de referencia (x) de características similares. 40 muestras de HbA1c fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de correlación (r) fue de 0,988 y la ecuación de la recta de regresión y = 0,983x + 0.140.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS Y LIMITACIONES

- Bilirrubina hasta 50mg/dL, ácido ascórbico hasta 50mg/dL, triglicéridos hasta 2000mg/dL, Hb carbamylada hasta 7,5mmol/L y Hb acetilada hasta 5,0mmol/L no interfieren en el ensayo.
- Este ensayo no se debe utilizar como único elemento para el diagnóstico de diabetes mellitus. Deben considerarse también otras pruebas para establecer un correcto diagnóstico.
- Las muestras de pacientes se deben evaluar siempre usando curva de calibración.
- Los resultados pueden ser inconsistentes en pacientes con las siguientes condiciones: adicción de opiáceos, envenenamiento por plomo, alcoholismo, grandes ingestas de aspirina.^{6, 7, 8, 9}
- Se ha demostrado que valores elevados de HbF pueden conducir a una infravaloración de HA1c, y que la uremia no interfiere con la determinación de HbA1c por inmunoensayo.¹⁰ También se ha demostrado que intermedios lábiles (base Schiff) no son detectados y no interfieren con la determinación de HbA1c por inmunoensayo.⁵
- Se ha determinado que las variantes de Hemoglobina HbA2, HbC y HbS no interfieren con este método.
- No se han evaluado otras variantes raras de hemoglobina (ej. HbE).











BIBLIOGRAFÍA

- Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284,353 (1971).
- Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
- Gabbay, K.H., Hasty, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
- Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 16 (Jan. 1978).
- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p.794-795 (1999).
- Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, p. 379 (1982).
- Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32, pp. 358-360 (1986).
- Fluckiger, R., et al, New Eng.J. Med. 304 pp. 823-827 (1981).
- Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, pp. 466-469 (1983).
- Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, pp. 93-97 (1989).
- American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).

PRESENTACIÓN

Ref.: MO-165035	R1: 1 x 30 mL
	R2: 1 x 10 mL
	R3: 1 x 125 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad