

COD 13047 1 x 60 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Reactivos para medir la concentración de Hemoglobina A1C Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico

HEMOGLOBIN A1C-DIRECT
(HbA1C-DIR)



HEMOGLOBINA A1C-DIRECTO (HbA1C-DIR)
DIRECTO

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Después de preparar un hemolizado, la concentración de Hemoglobina A1C (HbA1C) se cuantifica mediante un procedimiento turbidimétrico con látex. Las diferentes hemoglobinas presentes en el hemolizado se adsorben sobre la superficie de las partículas de látex de manera inespecífica y en proporción equivalente a su concentración en la muestra. La adición de un anticuerpo anti-HbA1C humana provoca una aglutinación proporcional a la concentración de Hemoglobina A1C que puede ser cuantificada por turbidimetría.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

- A. Reactivo. 1 x 50 mL. Suspensión de partículas de látex, azida de sodio 0,95 g/L, pH 8,0.
B. Reactivo. 1 x 10 mL. Anticuerpo anti-HbA1C humana, conservantes, pH 6,0.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro: absorbancia del blanco superior al límite indicado en "Parámetros del ensayo".

REACTIVOS AUXILIARES

- S. Patrones de HbA1C Directa (Cod. 31048): 4 niveles para 0,5 mL. Sangre humana. La concentración de HbA1C viene indicada en la etiqueta del vial.

La sangre humana utilizada en la preparación del patrón era negativa para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, los patrones deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

Reconstituir los liofilizados con 0,5 mL de agua destilada. Estables 30 días a 2-8°C.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Los Reactivos están listos para su uso.

Los reactivos abiertos y conservados en el compartimento refrigerado del analizador son estables 30 días.

MUESTRAS

Sangre venosa recogida mediante procedimientos estándar y con EDTA como anticoagulante.

HbA1C en sangre es estable 7 días a 2-8°C.

VALORES DE REFERENCIA

Los siguientes valores han sido establecidos por el Diabetes Control and Complications Trial Research Group (DCCT) y han sido aceptados en varios países para la población no diabética y para la evaluación del grado de control de la glucosa en sangre en pacientes diabéticos^{1,2}.

IFCC (mmol/mol)	NGSP-DCCT (%)	Valores referencia/Grado de control
20 - 48	4,0 - 6,5	No diabético
42 - 53	6,0 - 7,0	Objetivo
53 - 64	7,0 - 8,0	Buen control
> 64	> 8,0	Precisa actuación

CALIBRACIÓN

Se recomienda realizar el blanco cada día y calibrar al menos cada 30 días, después de un cambio de lote de reactivo o cuando lo requieran los procedimientos de control de calidad.

PROCEDIMIENTO

Preparación del hemolizado

Los patrones deben tratarse de la misma manera que las muestras de los pacientes.

- Pipetear en un tubo de ensayo:

Sangre	10 µL
Agua destilada	1000 µL

- Agitar suavemente evitando la formación de espuma. Dejar incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos.

El hemolizado es estable 72 horas a 2-8°C.

Parámetros del ensayo (Notas 1 y 2)

		A25	A15
GENERAL	Técnica	HbA1C-DIR	HbA1C-DIR
	Modo de análisis	WBL	WBL
	Tipo de muestra	Tiempo fijo birr.	Tiempo fijo birr.
	Unidades	mmol/mol	mmol/mol
	Tipo de reacción	creciente	creciente
PROCEDIMIENTO	Técnica de turbidimetría	sí	sí
	Decimales	0	0
	Nº Replicados	1	1
	Nombre de la técnica en el informe de paciente	-	-
	Volúmenes	monocromática	monocromática
Filtros	Muestra	3	3
	Reactivo 1	190	190
	Reactivo 2	40	40
	Lavado	1,2	1,2
	Factor predilución	-	-
	Factor postdilución	-	-
	Principal	670	670
	Referencia	-	-
	Tiempos	-	-
	Reactivo 1	135 s	144 s
Reactivo 2	435 s	456 s	
CALIBRACIÓN	Tipo de calibración	específico	específico
	Nº calibradores	4	4
	Replicados calibrador	3	3
	Replicados blanco	3	3
	Curva de calibración	Poligonal creciente	Poligonal creciente
OPCIONES	Blanco con solución salina	-	-
	Límite absorbancia blanco	0.500	0.500
	Límite blanco cinético	-	-
	Límite de linealidad	-	-

CÁLCULO

Los valores de concentración obtenidos son trazables al método de referencia descrito por la IFCC.

Los valores trazables al método de referencia descrito por el US National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) se obtienen mediante la siguiente fórmula³.

$$\text{HbA1C-NGSP-DCCT (\%)} = 0,0915 \times \text{HbA1C-IFCC (mmol/mol)} + 2,15$$

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Controles de Hemoglobina A1c, Normal (cod. 18001) y Elevado (cod. 18002), para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Los datos siguientes se obtuvieron usando un analizador A25. Los resultados son similares a los del A15. Los detalles sobre los datos de evaluación están disponibles bajo solicitud.

– Límite de detección: 6 mmol/mol.

– Intervalo de medida: (valor aproximado dependiendo de la concentración del patrón más elevado): 6 - 140 mmol/mol. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/2 con agua destilada y repetir la medición.

– Repetibilidad (intraserie):

	CV	n
37 mmol/mol	1,8 %	80
78 mmol/mol	1,6 %	80

– Reproducibilidad (interserie):

	CV	n
37 mmol/mol	3,1 %	20
78 mmol/mol	3,0 %	20

– Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

– Interferencias: La lipemia (triglicéridos 4 g/L) y la bilirrubina (10 mg/dL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁴.

En los inmunoensayos, la presencia de Hb-acetilada, Hb-carbamilada, HbA1C lábil, HbE y HbD no afecta a los resultados^{5,6}. Otras variantes de hemoglobina como HbS, HbF o HbC pueden interferir⁵.

En los pacientes con anemia hemolítica, anemia por deficiencia de hierro o cuando se ha practicado una transfusión, la edad media de los eritrocitos se ve alterada. Por este motivo, los resultados de HbA1C de estos pacientes deben interpretarse con precaución.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La Hemoglobina A1C es el producto de la condensación irreversible de la glucosa con el residuo N-terminal de la cadena β de la hemoglobina A.

La concentración de HbA1C en sangre es directamente proporcional a la concentración media de glucosa durante un periodo de tiempo de 6-8 semanas, equivalente a la vida media de los eritrocitos¹, y puede calcularse la glucosa media estimada (eAG) según las siguientes fórmulas⁷:

$$\begin{aligned} \text{eAG (mg/dL)} &= 28,7 \times \text{HbA1C-NGSP-DCCT (\%)} - 46,7 \\ \text{eAG (mmol/L)} &= 1,59 \times \text{HbA1C-NGSP-DCCT (\%)} - 2,59 \\ \text{eAG (mg/dL)} &= 2,64 \times \text{HbA1C-IFCC (mmol/mol)} + 15,0 \\ \text{eAG (mmol/L)} &= 0,146 \times \text{HbA1C-IFCC (mmol/mol)} + 0,843 \end{aligned}$$

Los niveles de HbA1C son un valioso complemento a las determinaciones de glucosa en sangre en la valoración del control glucémico para el seguimiento de los pacientes diabéticos, proporcionando una información más fiable que la concentración de glucosa. Existen varios estudios que indican que las complicaciones relacionadas con la diabetes pueden reducirse mediante un estrecho control de los niveles de glucosa en sangre. La concentración de HbA1C puede ser también una herramienta útil en el diagnóstico de la diabetes⁸.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

- Para evitar posibles interferencias con otro tipo de ensayos se recomienda realizar las mediciones de HbA1C en series independientes del resto de técnicas.
- Para evitar posibles interferencias por el líquido de sistema del analizador se recomienda utilizar agua destilada como líquido de sistema.

BIBLIOGRAFÍA

- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1993; 329: 977-986.
- Hoezel W et al. IFCC reference systems for measurement of hemoglobin A1C in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan and Sweden: a method-comparison study. Clin Chem 2004;50:166-174.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACCPress, 2000.
- Bry L, Chen P, Sacks D. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. Clin Chem 2001;41:153-163.
- Little R.R., Rohlfing C; Hanson S, Connolly S, Higgins T, Weykamp C, D'Costa M, Luzzi V, Owen W, Roberts WL. Effects of Hemoglobin (Hb) E and HbD traits on measurements of Glycated Hb (HbA1C) by 23 methods. Clin Chem 2008; 54: 1277-1282.
- Nathan DM, et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. Diabetes Care 2008; 31: 1473-1478.
- Nathan DM, et al. International Expert Committee report on the role of the HbA1C assay in the diagnosis of diabetes. Diabetes care 2009; 32: 1327-1334.