

HbA1c - Turbidimetric

<p>REF 3155005 1 x 45 mL CONTENIDO R1. Reactivo 1 x 30 mL R2a. Reactivo 1 x 10 mL R2b. Reactivo 1 x 5 mL</p>	<p>REF 3156005 1 x 125 mL CONTENIDO R1. Reactivo 1 x 125 mL</p>
<p>Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i></p>	

HbA1c - Turbidimétrico

Turbidimetría Látex

FUNDAMENTO

El método utiliza la reacción antígeno-anticuerpo para la determinación directa de la hemoglobina A1c (HbA1c) en sangre total. La hemoglobina total y la HbA1c compiten por la adsorción a partículas de latex (R1). El anticuerpo monoclonal anti-HbA1c humana (R2a), se une al complejo de latex-HbA1c. La presencia del anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón (R2b) causa la aglutinación de las partículas de látex (complejos). La cantidad de aglutinación formada es proporcional a la concentración de HbA1c en la muestra y puede ser medida por turbidimetría.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R1	Látex. Partículas de poliestireno 0.14% en Solución tamponada 20 mmol/L. Estabilizantes.
R2a	Anticuerpo A. Anticuerpo monoclonal anti-HbA1c humano de ratón 5.5 mg/mL en Solución tamponada 10 mmol/L. Estabilizantes.
R2b	Anticuerpo B. Anticuerpo policlonal IgG de cabra anti-IgG de ratón 67 mg/dL en Solución tamponada 10 mmol/L. Estabilizantes.
R1	Reactivo de Lisis. Ref: 3156005 Tampón, sodio azida 0,9 g/L.

Precauciones: Reactivos S 25: Evitar el contacto con los ojos. Consultar las fichas de seguridad y observar todas las medidas de precaución necesarias para el uso de reactivos de laboratorio.

Componentes opcionales:

HbA1c Calibrador. Ref: 3955005 4 niveles de calibrador de HbA1c.

HbA1c Control. Ref: 3955010 2 niveles de control de HbA1c.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

R1	Listo para su uso. Mezclar suavemente por inversión del vial antes de usar (Nota 3).
R2a	Listo para su uso.
R2b	Listo para su uso.

Sistema de 2-Reactivos: Mezclar 10 mL R2a + 5 mL R2b. Estable: 1 mes a 2-8°C.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- ⚠ Todos estos reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen cerrados a 2-8°C y se evita la contaminación durante su uso y su evaporación. No usar los reactivos una vez caducados. No intercambiar reactivos de lotes distintos. Los viales una vez abiertos, son estables 1 mes a 2-8°C.
- Indicadores de deterioro: Presencia de partículas y turbidez.

MUESTRAS

Sangre total en EDTA. Desechar muestras contaminadas.

Preparación de la muestra: Dispensar en 3 tubos:

Muestra / Control / Calibrador	20 µL
Reactivo de Lisis	1 mL

Incubar 5 minutos a temperatura ambiente o hasta obtener una lisis completa de los hematíes.

Estabilidad: Sangre total: 1 semana a 2-8°C; Hemolizado 10 h a 15-25°C o 10 días a 2-8°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o colorímetro con compartimiento de medición termostatado a 37°C, para leer a 660 nm.
- Cubetas de 1-cm de paso de luz.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

PROCEDIMIENTO

1. Preincubar el reactivo de trabajo, muestras y controles a la temperatura de reacción (37°C).
2. Ajustar a 0 el fotómetro con agua destilada.

Sistema 3-Reactivos

1. Pipetear:

Reactivo (R1)	750 µL
Muestra / Calibrador / Control / Agua (Blanco)	20 µL
2. Mezclar, incubar 2 minutos y añadir:

Reactivo (R2a)	250 µL
----------------	--------
3. Mezclar, incubar 3 minutos y añadir:

Reactivo (R2b)	125 µL
----------------	--------
4. Mezclar e incubar **exactamente** 2 minutos. Leer la absorbancia (A) a 660 nm.

Sistema 2-Reactivos

1. Pipetear:

Reactivo (R1)	1000 µL
Muestra / Calibrador / Control / Agua (Blanco)	30 µL
2. Mezclar, incubar 5 minutos y añadir:

Reactivo (R2a + R2b)	500 µL
----------------------	--------
3. Mezclar e incubar **exactamente** 5 minutos. Leer la absorbancia (A) a 660 nm.

Estabilidad de la calibración: 8 semanas (Sistema 3-Reactivos) y 6 días (Sistema 2-Reactivos).

Cálculos y estandarización

Representar en papel milimetrado los valores de Absorbancias frente a las concentraciones de HbA1c de los calibradores. La concentración de HbA1c de la muestra se calcula por interpolación de su valor en la curva.

La prueba ha sido estandarizada por el método de referencia aprobado del IFCC³. También se puede calibrar según DCCT/NGSP. Los valores NGSP muestran una relación lineal con los del IFCC. Pudiéndose calcular mediante la siguiente fórmula:

$$\text{HbA1c (IFCCb)} = (\text{HbA1c (NGSPa)} - 2,15) / 0,0915$$

$$\text{HbA1c (NGSPa)} = 0,0915 \times \text{HbA1c (IFCCb)} + 2,15$$

a: Valores NGSP en %

b: Valores IFCC en mmol/mol

IFCC: International Federation of Clinical Chemistry^{3,4,9}

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial⁵

NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program⁶



Concentraciones de HbA1c y de glucosa media

Gracias a la correlación lineal existente entre la hemoglobina A1c y las concentraciones medias de glucosa, los valores de HbA1c se pueden convertir en valores medios estimados de glucosa mediante las ecuaciones siguientes:

Normalización según IFCC (calculada conforme a la referencia bibliográfica 10):

Concentración media de glucosa [mg/dL]: $= 2,63 \times \text{HbA1c} + 15,01$
 Concentración media de glucosa [mmol/L]: $= 0,146 \times \text{HbA1c} + 0,829$

b: Valores HbA1c en mmol/mol IFCC Normalización según NGSP:

Concentración media de glucosa [mg/dL] = $28,7 \times \text{HbA1c} - 46,7$

Concentración media de glucosa [mmol/L] = $1,59 \times \text{HbA1c} - 2,59$

a: Valores HbA1c en % NGSP

No se observan diferencias significativas en la ecuación de regresión para las variables existentes en la población estudiada (sexo, presencia o ausencia de diabetes, tipo de diabetes, edad, raza u origen étnico). Aunque esta ecuación puede emplearse en la mayoría de individuos, cada laboratorio tiene que asegurarse de que la ecuación de regresión es válida para su grupo de pacientes.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad adecuado se incluirán en cada serie controles valorados HbA1c Control (Ref: 3955010) que se tratarán como muestras problema. Si los resultados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y la técnica usada. Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe comprobar o determinar por sí mismos los rangos de referencia con pacientes adecuados y no diabéticos.

Valores de referencia recomendados para HbA1c:

	mmol/mol IFCC	% NGSP
Pacientes no diabéticos	20 - 42	4 - 6
Objetivo de terapia	< 53	< 7
Modificación de terapia	> 64	> 8

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia.

SIGNIFICADO CLINICO

Hemoglobina A1c (HbA1c) es una hemoglobina glicada que se origina a partir de una reacción no enzimática de glucosa con hemoglobina nativa. Este proceso se produce constantemente en la circulación sanguínea (vida media de los eritrocitos: 100-120 días). El grado de glicación es directamente proporcional a la concentración de glucosa en sangre. La proporción de HbA1c en la hemoglobina total integra el nivel medio de glucosa en sangre de las últimas 6 a 8 semanas (debido a la cinética del volumen de eritrocitos, el nivel de glucosa en sangre se manifiesta más durante este periodo que durante las semanas anteriores). Por este motivo, la HbA1c sirve como parámetro de glucemia a largo plazo para el seguimiento retrospectivo en casos de diabetes mellitus. Los estudios clínicos han demostrado que un ajuste adecuado del valor HbA1c puede impedir o retrasar las consecuencias diabéticas a largo plazo. Debido a que la cantidad de HbA1c también depende de la cantidad total de hemoglobina, se indica la parte proporcional de HbA1c en la hemoglobina total.

En enfermedades relacionadas con una vida media reducida de los eritrocitos (determinadas enfermedades hematológicas) o por pérdidas de sangre abundantes durante las semanas anteriores (proporción mayor de eritrocitos jóvenes), pueden presentar valores falsamente bajos (HbA1c bajo a pesar de un porcentaje alto de glucosa en sangre). Se han observado valores falsamente altos (HbA1c alta con valores normales de glucosa en sangre) en anemias por déficit de hierro (mayor proporción de eritrocitos viejos). Este tipo de enfermedades debe tenerse en cuenta en la interpretación clínica de los valores de HbA1c.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PREVENCIÓN

En casos muy raros, muestras de pacientes con de gampatías pueden dar falsos resultados.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Rango de medida.** 15-150 mmol/mol IFCC (3-16% método NGSP) y hasta la concentración del calibrador más alto. El test está indicado para una concentración de hemoglobina de 6-26 g/dL.

- **Límite de Detección.** 10 mmol/mol de HbA1c.

- **Precisión.**

[mmol/mol]	Valor medio (VM)	Variación estándar	Coficiente variación CV
Intra-ensayo N = 20	35.0	0.48	1.37
	80.7	1.09	1.36
	114	2.04	1.80
Inter-ensayo N = 20	36.5	0.66	1,82
	83.3	1.39	1,67
	116	1.83	1,58

- **Exactitud.** Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:
 109 muestras: $y = 1,083x - 0,560\%$; $r = 0,987$.

- **Interferencias.** No presenta interferencias con ácido ascórbico (60 mg/dL), bilirrubina conjugada y no conjugada (60 mg/dL), lipidemia (2000 mg/dL de triglicéridos) y FR (250 IU/mL). El anticuerpo monoclonal no demuestra ninguna reactividad cruzada con hemoglobina carbamida o acetilada. No se presentan interferencias por uremia ni intermedios débiles (base de Schiff). El alcoholismo y la ingestión de una dosis elevada de Aspirina pueden influir los resultados. Las variantes de la hemoglobina podrían provocar resultados erróneos: Las concentraciones de HbA2 hasta 7% no presentan interferencia. Las concentraciones de HbF superiores a 5% pueden falsear resultados, disminuyendo el resultado. Muestras con concentración de HbS hasta 41%, se incrementa el resultado hasta 21%. En muestras cuya concentración de bC llega hasta 40%, se incrementan hasta 30%. En muestras cuya concentración de HbE es del 30%, los valores de HbA1c se incrementan hasta 16 %.

NOTAS

- Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Cualquier adaptación deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.
- El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.
- En instrumentos automáticos, evitar la presencia de burbujas en los reactivos que pueden interferir en el resultado de los análisis.

REFERENCIAS

- Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 142-48.
- Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 1999. p. 790-6.
- Jeppsson JO et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 78-89.
- Hoelzel W et al. IFCC Reference System for Measurement of A1c in Human Blood and the National Standardization Schemes in the United States, Japan, and Sweden: A Method-Comparison Study. Clin Chem 2004; 50 (1): 166-74.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes in the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993; 329: 977-86.
- Little RR, et al. The National Glycohemoglobin Standardization : A Five-Years Progress Report. Clin Chem 2001; 47: 1985-92.
- Data on file at Linear Chemicals.
- Panthechini M, IFCC Scientific Division. Implementation of haemoglobin A1c results traceable to the IFCC reference system. Clin Chem Lab Med 2007; 45(8): 942-4.
- Nordin G, Recommendation for term and measurement unit for "HbA1c". Clin Chem Lab Med 2007; 45(8): 1081-2.
- Sacks DB. Translating Hemoglobin A1c into Average Blood Glucose. Clinical Chemistry 2008; 54: 1756-8.

