

COD 13047 1 x 60 mL

Sólo para uso *in vitro* en el laboratorio clínicoHEMOGLOBINA A1C-DIRECTO (HbA1C-DIR)
DIRECTO**USO PREVISTO**

Reactivos para la medición de la concentración de hemoglobina A1C (HbA1C) en sangre humana. Los valores obtenidos son útiles como ayuda en el diagnóstico y el seguimiento de la diabetes mellitus. Estos reactivos deben ser utilizados en los analizadores A25 y A15 de BioSystems o en otro analizador de prestaciones similares.

SIGNIFICADO CLÍNICO

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 período 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 fórmulas²:

$$eAG \text{ (mg/dL)} = 28.7 \times \text{HbA1C-NGSP-DCCT (\%)} - 46.7$$

$$eAG \text{ (mmol/L)} = 1.59 \times \text{HbA1C-NGSP-DCCT (\%)} - 2.59$$

$$eAG \text{ (mg/dL)} = 2.64 \times \text{HbA1C-IFCC (mmol/mol)} + 15.0$$

$$eAG \text{ (mmol/L)} = 0.146 \times \text{HbA1C-IFCC (mmol/mol)} + 0.843$$

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 diabetes³.

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.

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 Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C.

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

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

Indicaciones de deterioro: Absorbancia del blanco superior al límite indicado en "Parámetros de la prueba".

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS (NO SUMINISTRADOS)

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.

MUESTRAS

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

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

PROCEDIMIENTO**Preparación del hemolizado**

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

1. Pipetear en un tubo de ensayo:

Sangre	50 µL
Agua destilada	5,0 mL

2. 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.

Ensayar según Parámetros de la Prueba.

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 fórmula⁴.

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

CALIBRACIÓN

Debe realizarse un blanco de reactivo 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.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Controles de Hemoglobina A1C, Normal (cod. 18001) y Elevado (cod. 18002) para verificar la exactitud 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 resultados de los controles no se encuentren entre los límites de aceptación.

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^{1,5}.

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

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Las prestaciones metrológicas que se describen a continuación, han sido obtenidas utilizando un analizador A25. Los resultados son similares a los del A15.

– 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.

Concentración media	Repetibilidad (CV)	Imprecisión total (CV)
37 mmol/mol	1,8 %	3,1 %
78 mmol/mol	1,6 %	3,0 %

– 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.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

– Interferencias: la bilirrubina (hasta 10 mg/dL) y la lipemia (triglicéridos hasta 400 mg/dL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁶.

En los inmunoensayos, la presencia de Hb-acetilada, Hb-carbamilada, HbA1C lábil, HbE y HbD no afecta a los resultados^{7,8}. Otras variantes de hemoglobina como HbS, HbF o HbC pueden interferir⁷.

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.

NOTAS

1. Para evitar posibles interferencias con otro tipo de ensayos se recomienda realizar las mediciones de HbA1C en series independientes del resto de técnicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- 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.
- Hoelzel 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.
- 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.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AAC Press, 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, Higgings 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.

PARÁMETROS DE LA PRUEBA (Nota 1)

Estos reactivos pueden utilizarse también en otros analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.

R1: Utilizar el Reactivo A, R2: Utilizar el Reactivo B

	A25	A15
GENERAL		
Nombre	HbA1C-DIR	HbA1C-DIR
Tipo muestra	WBL	WBL
Modo de análisis	tiempo fijo bireactiva.	tiempo fijo bireactiva.
Unidades	mmol/mol	mmol/mol
Test de turbidimetría	si	si
Decimales	0	0
Tipo de reacción	creciente	creciente
PROCEDIMIENTO		
Modo de lectura	monocromático	monocromático
Filtro principal	670	670
Filtro de referencia	-	-
Muestra	3	3
Vol. R1	190	190
Vol. R2	40	40
Lavado	1,2	1,2
Lectura 1 (ciclo)	10	7
Lectura 2 (ciclo)	30	20
Reactivo 2 (ciclo)	9	6
Factor predilución	-	-
CALIBRACIÓN Y BLANCO		
Tipo de calibración	específico	específico
Número de calibradores	4	4
Curva de calibración	poligonal creciente	poligonal creciente
OPCIONES		
Límite absorbancia blanco	0,700	0,700
Límite blanco cinético	-	-
Límite linealidad	-	-
Sustrato consumido	-	-