

# HEMOGLOBINA GLICOSILADA (HbA1c)

Reactivo líquido para la determinación cuantitativa de la Hemoglobina glicosilada (HbA1c) en sangre humana, trazable a NGSP.



Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

## SIGNIFICANCIA CLINICA

La determinación de HbA1c se utiliza comúnmente para la evaluación y control glicémico de la diabetes mellitus. Los valores de HbA1c proporcionan una indicación de los niveles de glucosa en las 4-8 semanas precedentes. Un valor más alto de HbA1c es indicativo de un control glicémico deficiente.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

Durante la vida del glóbulo rojo, la hemoglobina A1c es formada continuamente por la aducción de glucosa al Terminal N de la cadena beta de la hemoglobina. Este proceso, no enzimático, refleja la exposición media de la hemoglobina a la glucosa sobre un período extendido de tiempo. Trivelli et al<sup>1</sup> demostraron que la hemoglobina A1c en los diabéticos se encontraba elevada 2-3 veces respecto de los niveles encontrados en individuos normales. Varios investigadores han recomendado utilizar la hemoglobina A1c como indicador del control metabólico del diabético, dado que un adecuado control de éstos deriva en valores muy cercanos a los obtenidos con los pacientes normales.<sup>2,3,4</sup>

La Hemoglobina A1c corresponde a las hemoglobinas de la "fracción rápida" (HbA<sub>1a</sub>, A<sub>1b</sub>, A<sub>1c</sub>), que se eluyen primero durante la cromatografía de columna con resinas de intercambio catiónico. La hemoglobina no-glicosilada, correspondiente a la fracción mayoritaria de la hemoglobina, ha sido denominada HbA<sub>0</sub>.

Este método utiliza la interacción del antígeno y del anticuerpo para determinar directamente el HbA1c en sangre total. La hemoglobina total y HbA1c tienen la misma razón de absorción no específica a partículas de látex. Cuando se agrega un anticuerpo monoclonal anti HbA1c humana de ratón (R2), se forma un complejo látex-HbA1c-anticuerpo, el que aglutina al agregar un anticuerpo IgG policlonal de cabra el cual interactúa con el anticuerpo monoclonal. La cantidad de aglutinación es proporcional a la cantidad de HbA1c absorbida a la superficie de las partículas de látex y es medida fotométricamente utilizando una curva de calibración.

## REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C., estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Los reactivos R1 y R2 son estables a lo menos un mes después de abiertos y conservados entre 2° y 8°C.

Componentes de los reactivos :

Reactivo R1: Látex 0.13% en buffer

Reactivo R2: Anticuerpo monoclonal de ratón anti-HbA1c humana (0.05mg/mL); anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón (0.08mg/dl), estabilizadores no reactivos.

Reactivo 3: Agua y estabilizadores.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Los reactivos se encuentran listos para su uso. Mezcle suavemente antes de su uso.

Alteraciones en el aspecto físico de los reactivos o de los valores de los

materiales del control, fuera del rango aceptable del fabricante, pueden ser una indicación de inestabilidad de ellos.

## EQUIPO REQUERIDO

Referirse a la programación específica para cada instrumento.

## MUESTRAS

No se requiere preparación especial del paciente, no siendo necesario que éste se encuentre en ayunas. No es necesario agregar ningún tipo de preservantes con excepción de los anticoagulantes. Obtener la muestra de sangre venosa con EDTA usando técnica aséptica.

Preparación del hemolizado: Dispense 1 mL de Reactivo Hemolizante en los tubos etiquetados: Control, Pacientes, etc. Agregar 20 ul de la muestra debidamente homogenizada. Mezclar y esperar por 5 minutos o hasta que la lisis completa sea evidente. El hemolizado se puede almacenar hasta 10 días entre 2 y 8°C.

La hemoglobina HbA1c en la sangre total recogida con EDTA es estable por una semana entre 2 y 8°C.

## INTERFERENCIAS

Concentraciones de Bilirrubina hasta 50mg/dl, ácido ascórbico hasta 50mg/dl, triglicéridos hasta 2000 mg/dl, hemoglobina carbamylada hasta 7.5 mmol/L y hemoglobina acetilada hasta 5.0 mmol/L no interfieren en este análisis.

## TECNICA

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

## LIMITACIONES DEL METODO

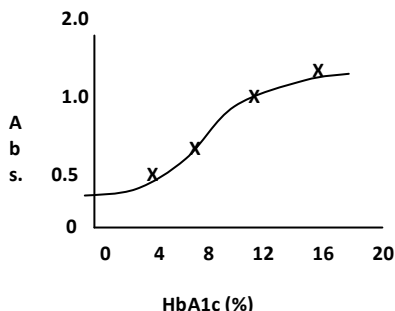
1. Este método no debe utilizarse para el diagnóstico de diabetes mellitus.
2. Las muestras deben ser procesadas utilizando siempre una curva de calibración.
3. Los resultados pueden ser inconsistentes en pacientes con adicción a los opiáceos, envenenamiento por plomo, alcoholismo e ingesta de altas dosis de aspirina.<sup>6,7,8,9</sup>
4. Niveles elevados de HbF pueden conducir a la subestimación de HA1c. La uremia no interfiere con la determinación de HbA1c por métodos inmunológicos.<sup>10</sup>
5. Las variantes HbS y HbA2 de la hemoglobina no son detectadas por métodos inmunológicos. Intermediarios lábiles (base de Schiff) no son detectados y por lo tanto, no interfieren con la determinación de HbA1c por este método.<sup>5</sup>
6. Otras variantes muy raras de la hemoglobina (e.g. HbE) no han sido determinadas

## CONTROL DE CALIDAD

La confiabilidad de los resultados de la prueba debe ser verificada utilizando estándares y controles en la misma forma que la muestra de los pacientes.

## CALCULOS

Los resultados de la hemoglobina HbA1c para las muestras y los controles se determinan usando la curva de calibración obtenida con los calibradores, similar a la ilustración adjunta:



NOTA: utilice suero fisiológico como calibrador 0%

## RANGOS DE REFERENCIA<sup>11</sup>

Paciente no diabético: < 6%

Diabético con adecuado control metabólico: <7%

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia. Los valores obtenidos deben ser evaluados en forma individual para cada paciente considerando sus propios valores históricos. Hay un retraso de 3 a 4 semanas antes de que la hemoglobina A1c refleje cambios en el nivel de la glicemia.

## PERFORMANCE DEL REACTIVO

Linealidad: 2.0% a 16.0%.

Estudios comparativos: Un estudio comparativo con otro método inmunológico disponible en el mercado utilizando 45 muestras, arrojó un coeficiente de correlación de 0.988 y una ecuación de la regresión lineal de  $y=1.05x - 0.481$ . (SEOE = 0.332)

Precisión:

Intra ensayo: este estudio se realizó utilizando 3 muestras con diferentes niveles de HbA1c las cuales fueron procesadas 20 veces cada una.

Nivel	Media	S.D.	%C.V.
Bajo	4.76	0.06	1.26
Medio	7.29	0.08	1.10
Alto	10.9	0.16	1.47

Inter ensayo: este estudio se realizó utilizando 3 muestras con diferentes niveles de HbA1c las cuáles fueron procesadas cada 5 días en 10 ocasiones.

Nivel	Media	S.D.	%C.V.
Bajo	4.72	0.06	1.27
Medio	7.36	0.08	1.10
Alto	11.0	0.17	1.55

Sensibilidad: Un cambio de absorbancia de 0.073 medida a 660 nm. utilizando como blanco suero fisiológico, equivale aproximadamente a 1% de HbA1c

## PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO	
200155	Reactivo 1	1 x 30 mL
	Reactivo 2	1 x 10 mL
	Reactivo 3	2 x 62.5 mL
300155	Reactivo 1	1 x 30 mL
	Reactivo 2	1 x 10 mL
	Reactivo 3	2 x 62.5 mL

## BIBLIOGRAFIA

1. Trivelli, L.A., Ranney, H.M., y Lai, H.T., Nuevo Inglés. J. Med. 284.353 (1971).
2. Gonen, B., y Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
3. Gabbay, K.H., Precipitado, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., y Galope, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44. 859 (1977).
4. Bates, H.M., Laboratorio. Mang., Vol. 16 (Enero 1978).
5. Tietz, N.W., Libro de textos de la química clínica, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p.794-795 (1999).
6. Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, p. 379 (1982).
7. Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32. pp. 358-360 (1986).
8. Fluckiger, R., et al, Nuevo Inglés.J. Med. 304 pp. 823-827 (1981).
9. Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29. pp. 466-469 (1983).
10. Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35. pp. 93-97 (1989).
11. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes care 24 (Suppl. 1):S33-S55, (2001).

Fabricado por Pointe Scientific, INC. para VALTEK S.A.

REV N°4