

GLYCOHEMOGLOBIN HbA₁-Test

Método rápido de separación por resina de intercambio iónico

Presentación del estuche

REF	10657	20 Tests	Estuche completo
	10658	100 Tests	Estuche completo
	10259	2 x para 1 ml	Controles normal y anormal

IVD

Método

La formación de glicohemoglobina ocurre irreversible y progresivamente en los eritrocitos a través de los 120 días de vida normal de estas células. Dado que la concentración de glicohemoglobina en el eritrocito refleja el nivel promedio de glucosa en la sangre de las 4 a 6 semanas anteriores y es estable por la vida de los eritrocitos, la medición de la glicohemoglobina proporciona una prueba de gran valor para evaluar el control a largo plazo de los pacientes diabéticos.

Principio

La sangre total se mezcla con un reactivo hemolisante que contiene un detergente y una concentración alta de iones de borato. La eliminación de la base lábil de Schiff se consigue así durante la hemólisis. La preparación hemolizada se mezcla por 5 minutos con una resina de intercambio catiónico de enlaces débiles. Durante este tiempo, la HbA₁ se une a la resina. Después del período de mezcla, se usa un separador de resina, para remover la resina del líquido sobrenadante que contiene la HbA₁. El porcentaje de glicohemoglobina sobre la hemoglobina total se determina midiendo la absorbancia de la fracción de glicohemoglobina y la hemoglobina total a 415 nm ó 405 nm Hg, en comparación con el estándar provisto, el cual se somete al mismo procedimiento de separación y medición.

Contenidos, composición de reactivos en la prueba

REF	10657	10658
LYSE	10 ml	5 x 10 ml
RGT	20 x 2,5 ml	100 x 2,5 ml
STD	1 x para 1 ml	1 x para 1 ml
CUP	20	100
SEP	20	100
LYSE	Reactivo lisante (pH 7,0 ± 0,1)	
	Borato	1 mol/l
	Detergente	0,25 %
RGT	Resina de intercambio iónico (pre envasado en tubos de plástico)	
	Buffer imidazol (pH 7,6 ± 0,1)	30 mmol/l
	Borato	150 mmol/l
STD	para 1,0 ml estándar (hemoglobina liofilizada) concentración ver etiqueta	
CUP	Tubos de plástico para la hemólisis	
SEP	Separadores de resina	
REF	10259	
GCN	para 1,0 ml Control para glicohemoglobina (normal) humano, concentración ver etiqueta	
GCA	para 1,0 ml Control para glicohemoglobina (anormal) humano, concentración ver etiqueta	

Preparación de reactivos y estabilidad

RGT: listo para uso. Almacenar a temperatura ambiente.
LYSE: listo para uso. Después de abrir, estable por 2 meses almacenado a temperatura ambiente. Mezclar bien antes de usar. Para **STD**, muestras, y controles pipetear 0,5 ml de **LYSE** en un **CUP** marcado para cada uno.
STD, **GCN** y **GCA**: Almacenar a 2...8°C. Reconstituir con 1,0 ml de agua destilada. Dejar reposar por 30 minutos, mezclando ocasionalmente. Usar recién reconstituidos o almacenar congelados en alícuotas. Los reactivos reconstituidos son estables por 30 días almacenados a -20°C o más bajo. Mezclar bien antes de usar. Congelar solamente una vez. Tratar exactamente como las muestras.

Muestras

Usar sangre total con EDTA como anticoagulante. La muestra es estable por una semana, a temperatura de 2...8°C. Mezclar bien antes de usar.

Ensayo

Longitud de onda: 415 nm ó Hg 405 nm
Temperatura: 15...25°C
Medición: Frente al agua

Procedimiento

Etapa 1 Hemolisis
Pipetear en CUP pre envasado 100 µl de STD , muestra, GCN o GCA
Mezclar. Incubar por 5 min. a 15...25°C (Nota 2)
Etapa 2 Determinación de HbA₁ (Nota 3)
Pipetear 100 µl del hemolisado de la etapa 1 en RGT marcado
Colocar SEP dentro del TUBE de manera que émbolo de goma esté aprox. 1 cm arriba del nivel del líquido. Mezclar en un agitador hematológico por 5 min. Empujar SEP hacia el fondo hasta que la resina esté firmemente presionada. Verter el sobrenadante dentro de una cubeta.
Leer la absorbancia A _{HbA₁} STD /muestra/control
Etapa 3 Determinación de la hemoglobina total
Pipetear 20 µl del hemolisado de la etapa 1 en tubos marcados
Agregar 5 ml de agua destilada
Mezclar cuidadosamente.
Leer la absorbancia A _{Hb total} STD /muestra/control

Calculo del contenido de HbA₁

Determinación del factor F por medio del **STD**:

El porcentaje de glicohemoglobina (% HbA₁ **STD**) se encuentra en la etiqueta bajo %.

$$F = \frac{A_{Hb\ total\ STD} \times \% HbA_1\ STD}{A_{HbA_1\ STD}}$$

Contenido de glicohemoglobina de la muestra:

$$\% HbA_1\ muestra = F \times \frac{A_{HbA_1\ muestra}}{A_{Hb\ total\ muestra}}$$

Interpretación clínica

Pacientes	% HbA ₁
con metabolismo normal o diabéticos estables	4,5 – 7,0
Diabéticos, mal controlados ó con metabolismo desequilibrado	≥ 8,5

Características de la ejecución

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía:
www.human.de/data/gb/vr/su-glych.pdf ó
www.human-de.com/data/gb/vr/su-glych.pdf

Notas

- Los resultados no son influenciados por las variaciones de temperatura. Controlar **STD** a intervalos convenientes, por lo menos una vez por estuche.
- Los diabéticos descompensados pueden tener niveles extremadamente altos de la forma lábil de aldimina. En este caso la etapa 1 debería aumentarse a 15 minutos para asegurar la eliminación total de esta forma lábil.
- RGT** debe mezclarse muy bien para asegurar una buena reproducibilidad de la prueba.
- Si no hay agitador hematológico disponible, se puede usar un agitador vórtex o agitación manual para agitar **RGT**. Es suficiente agitar **RGT** durante 10 - 15 segundos varias veces durante la etapa 2.
- Como todos los métodos de diagnóstico, el diagnóstico final no debería basarse en los resultados de una sola prueba, sino que debería fundamentarse en una correlación de resultados con otros hallazgos clínicos.
- STD**, **GCN** y **GCA** fueron probados y se encontraron negativos para HBsAg, HCV y anticuerpos HIV, sin embargo se deben manejar con cuidado como material potencialmente infeccioso.
- LYSE** contiene azida de sodio (10 mmol/l). **RGT** contiene timerosal. No ingerirlo. Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.

Literatura

- Gorka G., Labor-Medizin 1, 30-31 (1985)
- James T.M. et al., Clin. Biochem. 14, 25-27 (1981)
- Nuttall, F.Q., Diabetes Care 21, 1475-1480 (1998)

SU-GLYCH
INF 1065701 E
10-2004-11



Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telex: 4 064282 hubi d - Telefax: +49 6122 9988 100
eMail: human@human.de