

HbA1c% liquidirect

Ensayo inmunológico para la determinación fotométrica directa de glicohemoglobina A1c%

Presentación del estuche

REF	10770	40 ml	Estuche de prueba
	10776	4 x para 0,5 ml	Calibradores
	10775	4 x para 0,5 ml	Controles

IVD

Uso previsto

Para la determinación cuantitativa en por cientos de hemoglobina A1c (HbA1c) en sangre humano. La determinación de HbA1c se efectúa en el control a largo plazo de diabetes mellitus. Los valores de HbA1c indican los niveles medios de glucosa en las últimas 4-8 semanas. Un valor elevado de HbA1c indica un nivel de glucosa mal controlado. La HbA1c se expresa normalmente en el porcentaje de la concentración total de Hb: HbA1c%. Para mejorar la comparación entre los diferentes métodos y laboratorios, hace poco, la IFCC ha introducido valores de referencia para la HbA1c.⁸

Método

Este método utiliza la fijación del antígeno y del anticuerpo para determinar directamente el porcentaje de HbA1c en sangre total. Tanto la Hb total y como la HbA1c se fijan de manera competitiva a partículas de latex específicos proporcionalmente a su concentración. Anticuerpos monoclonales (ratón) anti-HbA1c son reticulados por anticuerpos anti-ratón (cabra) y reaccionan específicamente con la HbA1c lo que resuelta en una aglutinación de los particulos de latex. El grado de aglutinación depende de la cantidad de HbA1c fijada. El incremento de turbidez en la mezcla reaccional se mide fotométricamente. El valor HbA1c% se calcula mediante una curva de calibración establecida con los calibradores.

Reactivos

REF 10770

RGT1

1 x 30 ml Reactivo latex

Latex 0,13 %
Buffer glicina 20 mmol/l

BUF

1 x 9,5 ml Buffer

Buffer glicina (pH 7,3) 80 mmol/l

AS

1 x 0,5 ml Anticuerpos

anti-humano HbA1c (ratón, monoclonal) 0,05 mg/ml
anti-ratón IgG (cabra, policlonal) 0,08 mg/dl

LYS

2 x 100 ml Reactivo de hemolisis

Solución lisante
NaN3 0,05 %

REF 10776

CAL1...4

4 x para 0,5 ml Calibradores

Sangre humano (liofilizado)

Las concentraciones que tienen correlación con el NGSP/DCCT se encuentran en las etiquetas.

REF 10775

CBN

2 x para 0,5 ml Sangre de control normal

CBA

2 x para 0,5 ml Sangre de control anormal

Sangre humano (liofilizado)

Las concentraciones se encuentran en las etiquetas.

Preparación de los reactivos y estabilidad

RGT1 y **LYS** están listos para el uso.

Almacenar los reactivos de 2...8°C. Todos los reactivos son estables hasta las fechas de vencimiento indicadas en las etiquetas.

RGT2 se prepara virtiendo el contenido completo de un frasco de **AS** dentro de un frasco de **BUF**. Enjuagar el frasco **AS** con **RGT2**. Mezclar cuidadosamente.

Reconstituir un frasco de **CAL** o de **CBN/A** con exactamente 0,5 ml de agua destilada o desionizada. Agitar cuidadosamente durante 10 min.

RGT1, **LYS**, **RGT2**, **CAL** y **CBN/A** están estables para 1 mes después de abrir o preparar si se almacenan de 2...8°C y se cierran herméticamente.

Toma de muestras y preparación

Una preparación especial del paciente o el ayuno no son necesarios. Tomar sangre venosa con EDTA usando una técnica aséptica.

Estabilidad: 1 semana de 2...8°C.¹

Hemolisis

Pipetear en tubos	
LYS	1000 µl
Muestra/ CAL / CBN/A	20 µl
Mezclar, dejar reposar para 5 min. o hasta que se observa la hemolisis completa.	
Usar los lisados para el ensayo. Estabilidad: 10 días de 2...8°C	

Ensayo

Longitud de onda: 600 - 660 nm

Paso de luz: 1 cm

Temperatura: 37°C

Medición: frente al blanco de reactivo (BR). Se necesita sólo un blanco de reactivo por serie.

Esquema de pipeteo

Mezclar RGT1 cuidadosamente antes de usar, resuspender completamente las partículas de látex.		
Pipetear en cubetas	Blanco de reactivo (BR)	CAL o muestra
RGT1	750 µl	750 µl
Hemolisado (Muestra/ CAL ..)	----	20 µl
Mezclar y incubar por 5 min. a 37°C.		
RGT2	250 µl	250 µl
Mezclar, incubar por 5 min. a 37°C. Medir la absorbancia de la muestra (A muestra) y del CAL (A CAL) frente al blanco de reactivo dentro de 30 min.		

Guardar la relación **RGT1** : muestra : **RGT2** constante en caso que se reduce el volumen total.

Calculación

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A_{\text{CAL}} = A_{\text{CAL}} - A_{\text{BR}}$) de cada calibrador y graficar los valores (eje y) contra las concentraciones respectivas (eje x) (impresas en las etiquetas). La concentración de la muestra se interpola de la curva de calibración.

Los resultados pueden convertirse en el sistema de referencia IFCC usando la fórmula siguiente:

$$\text{HbA1c\% (NGSP)} \times = \text{HbA1c\% (IFCC)} \times 0,876 + 2,27$$

$$\text{HbA1c\% (IFCC)} \times = \text{HbA1c\% (NGSP)} \times 1,142 - 2,60$$

Características de la ejecución

Linealidad: El rango de medida se defina por el rango de concentración de los calibradores y puede ir de 2,0 - 16,0% HbA1c.

Sensibilidad: Una modificación de la absorbancia de $\Delta A=0,073$ equivale aproximadamente a 1,0% HbA1c.

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible via:

www.human.de/data/gb/vr/su-hba1c.pdf o

www.human-de.com/data/gb/vr/su-hba1c.pdf

Interferencias

1. Bilirrubina <50 mg/dl, ácido ascórbico <50 mg/dl, triglicéridos <2000 mg/dl, Hb carbamylada <7,5 mmol/l y Hb acetilada <5,0 mmol/l y los grados intermedios labiles (base de Schiff) no interfieren en esta prueba.¹

2. Niveles elevados de HbF pueden llevar a una subestimación del nivel de HbA1c.⁴

Valores esperados⁵

Menos que el 6% para una persona sin diabetes, menos que el 7% en el control de glicemia de un paciente con diabetes (NGSP⁶/DCCT⁷).

Cada laboratorio debería establecer sus propios valores esperados. Cuando se usa la HbA1c para controlar los pacientes con diabetes, los resultados deberían interpretarse individualmente. Es decir que el paciente debería ser controlado frente a sus propios valores.

Control de calidad

Se pueden utilizar todos los sangres de control con valores de HbA1c% determinados con este método.

Recomendamos el uso de nuestros controles basados en sangre humano **REF** 10775. Si los controles no caen dentro del rango permitido, los valores de pacientes obtenidos de esta serie no deberían ser repartidos. Repetir el ensayo asegurándose que todas las instrucciones de trabajo son observadas estrictamente.

Automación

Proposiciones para la aplicación de los reactivos sobre analizadores están disponibles sobre demanda. Cada laboratorio tiene que validar la aplicación en su propia responsabilidad.

Nota

CAL y **CBN/A** son de origen humano. Se han probado para HBsAg y anticuerpos HIV y HCV encontrándose negativos usando los métodos FDA. Sin embargo, **CAL** y **CBN/A** aún se deben manejar como potencialmente infeccioso.

Literatura

1. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 794-795 (1999)
2. Goldstein, D.E. et al., Clin. Chem. **32**, 364-370 (1986)
3. Nathan, D.M. et al., Clin. Chem. **29**, 466-469 (1983)
4. Engbaek, F. et al., Clin. Chem. **35**, 93-97 (1989)
5. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care **24** (Suppl. 1): S33-S55, (2001)
6. Little R.R. et al., Clin. Chem. **47**, 1985-1992 (2001)
7. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group, N.Engl.J.Med. **329**, 977-986 (1993)
8. Jeppsson J.-O. et al., Clin.Chem.Lab.Med. **40**, 78-89 (2002)

SU-HBA1C
INF1077001 E
01-2005-2



Human

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