

ⓄⓃⓔHbA1c FS*

Reactivo para la determinación cuantitativa *In Vitro* de hemoglobina A1c en sangre entera en equipos fotométricos en general

Información de pedido

N° de pedido	Tamaño del envase
1 3329 99 10 930	R1 3 x 20 mL + R2 2 x 10 mL + R3 1 x 10 mL
1 3329 99 10 935	R1 2 x 15 mL + R2 1 x 10 mL + R3 1 x 5 mL
1 3329 99 90 380	R1 2 x 15 mL + R2 1 x 10 mL + R3 1 x 5 mL
1 4570 99 10 113	1 x 500 mL oneHbA1c solución hemolizante

Resumen [1,2, 12]

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 mientras se encuentre un eritrocito en la circulación sanguínea (la vida media de los eritrocitos es de 100 a 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 la diabetes mellitus. Los estudios clínicos han demostrado que un ajuste adecuado del valor HbA1c puede impedir o retrasar las consecuencias diabéticas a largo plazo. El test de la HbA1c sirve igualmente para diagnosticar la diabetes mellitus.

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 considerables durante las semanas anteriores (proporción mayor de eritrocitos jóvenes), se pueden presentar valores bajos falsos (HbA1c baja a pesar de un porcentaje alto de glucosa en sangre). Se han observado valores altos falsos (HbA1c alta a pesar del porcentaje normal 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.

Método y Principio

Test inmunoturbidimétrico con partículas de refuerzo

La determinación de HbA1c se produce directamente sin medición de hemoglobina total.

La hemoglobina total y la HbA1c en hemolizado se unen con la misma afinidad a las partículas en R1. El grado de unión es proporcional a la concentración relativa de ambas sustancias en la sangre.

El anticuerpo monoclonal HbA1c anti-humano (ratón) (R2) se une a la HbA1c unida por partículas. El anticuerpo policlonal IgG anti-ratón (cabra) (R3) reacciona con el anticuerpo monoclonal HbA1c anti-humano produciendo una aglutinación. La absorbancia medida es proporcional a la HbA1c unida por partículas que, a su vez, es proporcional al porcentaje de HbA1c en la muestra.

Estandarización

La prueba ha sido estandarizada a partir del método de referencia aprobado IFCC [3].

Los valores NGSP muestran una relación lineal a los del IFCC. Por lo tanto se pueden calcular mediante la siguiente fórmula:

$$\text{HbA1c (IFCC}^a\text{)} = (\text{HbA1c (NGSP}^b\text{)} - 2,15) / 0,0915$$

$$\text{HbA1c (NGSP}^b\text{)} = 0,0915 \times \text{HbA1c (IFCC}^a\text{)} + 2,15$$

a: Valores IFCC en mmol/mol

b: Valores NGSP en %

IFCC: International Federation of Clinical Chemistry [3,4,9]

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial [5]

NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program [6]

Concentraciones de HbA1c y de Glucosa Media [10]

Debido 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):

$$\text{Concentración media de glucosa [mg/dL]} = 2,63 \times \text{HbA1c}^a + 15,01$$

$$\text{Concentración media de glucosa [mmol/L]} = 0,146 \times \text{HbA1c}^a + 0,829$$

a: Valores HbA1c en mmol/mol IFCC

Normalización según NGSP:

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

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

b: 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.

Reactivos

Componentes y concentraciones

R1:	Solución amortiguadora Látex	20 mmol/L 0,14 %
R2:	Solución amortiguadora Anticuerpo monoclonal HbA1c anti-humano de ratón	10 mmol/L 5,5 mg/mL
R3:	Solución amortiguadora Anticuerpo policlonal IgG anti-ratón de cabra	10 mmol/L 67 mg/dL

Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado como fecha de expiración, si son almacenados entre 2 y 8 °C, y si se evita la contaminación. No congelar los reactivos y protegerlos de la luz.

Preparación de los Reactivos

Los reactivos son listos para usar.

En caso de utilización en sistemas que no pueden emplear tres reactivos, los reactivos 2 y 3 tienen que ser pre-mezclados antes del uso. Transferir 5 mL del R3 en el envase del R2, entonces bien mezclar inmediatamente. La estabilidad de R2/R3 pre-mezclado es 1 mes de 2 a 8 °C.

Advertencias y Precauciones

- El reactivo 2 contiene material de origen animal. Tratar el producto como potencialmente infeccioso según las precauciones universales y la buena práctica de laboratorio.
- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [13].
- Los anticuerpos heterófilos en especímenes de pacientes pueden llevar a valores erróneos.
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- Se necesita purificar las cubetas inmediatamente después de una medición del HbA1c. Para la purificación de las cubetas, por favor, empleen la solución alcalina de lavar recomendada por el fabricante del sistema de análisis.
- ¡Únicamente para el empleo profesional!

Manipulación de Desechos

Remitirse a los requerimientos legales locales.

Materiales Requeridos

Equipo general de laboratorio

Espécimen

Sangre entera EDTA

Desechar las muestras contaminadas.

Extraer la sangre total por toma de sangre estandarizada y llenar el tubo de recogida conforme a las especificaciones del fabricante.

Preparación de las muestras

Para la preparación de muestras se requiere la solución hemolizante DiaSys oneHbA1c (n° de pedido 1 4570 99 10 113).

Preparación de muestras:

Solución hemolizante	1000 µL
Muestra/calibrador/control	20 µL
Mezclar y dejar reposar 5 min. o hasta que se haya completado la hemólisis.	

Estabilidad [7]

Sangre entera	1 semana	de	2 a 8 °C
Hemolizante	10 horas	de	15 a 25 °C
Hemolizante	10 días	a	2 a 8 °C

Procedimiento del Ensayo

Hay disponibles, a petición, aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	660 nm
Paso óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Método de medida	Respecto al aire

Sistema con 3 componentes – listo para usar

Muestra o calibrador	15 µL
Reactivo 1	600 µL
Mezclar, incubar por 2 minutos y añadir:	
Reactivo 2	200 µL
Mezclar, incubar por 3 minutos y añadir:	
Reactivo 3	100 µL
Mezclar, leer la absorbancia exactamente después de 1 minuto y leer la absorbancia de nuevo exactamente después de 5 minutos.	

Sistema con 2 componentes (R2/R3 pre-mezclado)

Muestra o calibrador	15 µL
Reactivo 1	600 µL
Mezclar, incubar por 5 minutos y añadir:	
Reactivos 2/3	300 µL
Mezclar, leer la absorbancia exactamente después de 1 minuto y leer la absorbancia de nuevo exactamente después de 5 minutos.	

Cálculo

Un ΔA se calcula a partir de las lecturas de absorbancia.

$$\Delta A = (A_2 - A_1) \text{ Muestra/Calibrador}$$

La concentración de HbA1c de muestras desconocidas se calcula mediante una curva de calibración y empleando un modelo matemático adecuado, por ejemplo *Spline*. La curva de calibración se establece con cuatro calibradores de diversa concentración y con solución de NaCl (9 g/L) para determinar el punto cero.

Estabilidad de la calibración:	
Sistema con 3 componentes	4 semanas
Sistema con 2 componentes	4 semanas

Calibradores y controles

Se recomienda utilizar TruCal HbA1c líquido para la calibración. Los valores del calibrador TruCal HbA1c líquido son trazables al método de referencia probado de la IFCC. Los valores según DCCT/NGSP en % se derivaron por calculación de los valores según IFCC. Utilizar TruLab HbA1c líquido para el control de calidad interno. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruCal HbA1c líquido	1 3320 99 10 043	4 x 0,25 mL
TruLab HbA1c líquido nivel 1	5 9790 99 10 074	4 x 0,25 mL
TruLab HbA1c líquido nivel 2	5 9800 99 10 074	4 x 0,25 mL

Características

Datos evaluados en Hitachi 917

Rango de medida

El test tiene un rango de medida de 30 – 150 mmol/mol de HbA1c según IFCC (4,9 – 16 % según NGSP) y llega por lo menos hasta la concentración del calibrador más alto.

El test está indicado para una concentración total de hemoglobina de 6,6 - 26 g/dL.

Interferencias

El estudio sobre interferencias fue realizada según el protocolo EP7-A2 CLSI.

IFCC

Para cada sustancia interferente, dos muestras con valores diferentes de la HbA1c fueron determinados; una muestra de un nivel bajo de un intervalo de la HbA1c de 20 a 40 mmol/mol y una muestra de nivel elevado dentro de un intervalo de la HbA1c de 60 a 100 mmol/mol.

DCCT/NGSP

Para cada sustancia interferente, dos muestras con valores diferentes de la HbA1c fueron determinados; una muestra de un nivel bajo dentro de un intervalo de la HbA1c entre 4,0 y 5,8 % y una muestra de nivel elevado dentro de un intervalo de la HbA1c de 7,6 y 11,3 %.

La tabla abajo resume los resultados cumpliendo con todos los niveles de test y son aplicables tanto para la estandarización IFCC como para DCCT/NGSP así como por la sistema con 2 componentes y la Sistema con 3 componentes.

Sustancia interferente	Interferencias < 7 % DCCT/NGSP y < 10 % IFCC
Acido ascórbico	hasta 60 mg/dL
Bilirrubina (conjugada y no conjugada)	hasta 60 mg/dL
Glucosa	hasta 1000 mg/dL
Hemoglobina, acetilada	hasta 10 mmol/L
Hemoglobina, carbamida	hasta 10 mmol/L
Lipemia (triglicéridos)	hasta 2000 mg/dL
NAC (acetilcisteína)	hasta 1000 mg/L
Urea	hasta 300 mg/dL
Factores reumatoides	hasta 500 IU/mL
No se presentan interferencias por la base de Schiff (intermedios débiles). El alcoholismo y la ingestión de una dosis elevada de Aspirina pueden falsear resultados. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [13].	

Variantes de la hemoglobina [7]:

No aparecen interferencias con las variantes de la hemoglobina AS, AC, AD, AG, DD y elevated A2.

Las variantes de la hemoglobina AE, AJ, SS, CC, SC, SE, EE elevated F y elevated A2/F podrían provocar resultados erróneos (> 7 % DCCT/NGSP; > 10 % IFCC).

Límite de detección del test/Límite de prueba

El límite inferior de prueba (LOQ) es de 30 mmol/mol de HbA1c según IFCC (4,9 % HbA1c según DCCT/IFCC).

Imprecisión (Hitachi 917, sistema de 3 componentes)

Valores según IFCC

En la serie n = 20	Valor medio (VM) [mmol/mol]	Desviación estándar [mmol/mol]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	34,1	0,541	1,59
Muestra 2	57,1	0,555	0,973
Muestra 3	84,7	1,02	1,21

De un día a otro n = 20	Valor medio (VM) [mmol/mol]	Desviación estándar [mmol/mol]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	37,6	0,771	2,05
Muestra 2	54,3	0,772	1,42
Muestra 3	85,3	1,50	1,76

Precisión total CLSI n = 80	Valor medio [mmol/mol]	Desviación estándar [mmol/mol]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	37,6	0,776	2,06
Muestra 2	54,7	0,953	1,74
Muestra 3	85,7	1,62	1,89

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys oneHbA1c FS (y) con otro test disponible en el mercado (x) se obtuvieron los siguientes resultados (IFCC) para 88 muestras:

$$y = 1,05x - 2,94 \text{ mmol/mol}; r = 0,998$$

En la comparación de DiaSys oneHbA1c FS (y) con un test HPLC (x) se obtuvieron los siguientes resultados (IFCC) para 100 muestras:

$$y = 1,04x - 1,75 \text{ mmol/mol}; r = 0,997$$

Valores de referencia

Valores de referencia recomendados para HbA1c [8]

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

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Valor límite de la HbA1c para el diagnóstico de la diabetes mellitus [12]:

Según la recomendación de la Asociación Americana de la Diabetes (American Diabetes Association/ADA):

≥ 6,5 % (NGSP) (48 mmol/mol (IFCC))

Pacientes mostrando valores de HbA1c en el rango de 5,7 – 6,4 % (NGSP) o de 39 a 46 mmol/mol HbA1c (IFCC) corren el riesgo de desarrollar la diabetes.

Bibliografía

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 142-48.
2. 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.
3. Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 78-89.
4. Hoelzel W, Weykamp C et al. IFCC Reference System 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 (1): 166-74.
5. 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.
6. Little RR, Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Myers GL et al. The National Glycohemoglobin Standardization Program: A Five-Years Progress Report. Clin Chem 2001; 47: 1985-92.
7. Data on file at DiaSys Diagnostic Systems GmbH.
8. Pantheghini M, John WG on behalf of the IFCC Scientific Division. Implementation of haemoglobin A1c results traceable to the IFCC reference system: the way forward. Clin Chem Lab Med 2007; 45(8): 942-4.
9. Nordin G, Dybkær R. Recommendation for term and measurement unit for "HbA1c". Clin Chem Lab Med 2007; 45(8): 1081-2.
10. Sacks DB. Translating Hemoglobin A1c into Average Blood Glucose: Implications for Clinical Chemistry. Clinical Chemistry 2008; 54: 1756-8.
11. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
12. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, AR Horvath et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2011; 57(6): e1-e47.
13. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Fabricado por



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania