



BioTécnica
BIOTECNOLOGIA AVANÇADA

HbA1c Plus
HbA1c Plus | HbA1c Plus
Ref. 20.025.00

Bio **X** **IVD**

Responsável Técnico:
Dr. Glison Sériot Rizzo
CRF MG - 5310
NB 80027310247

FINALIDADE
Kit destinado à determinação quantitativa da Hemoglobina Glicosilada A1c (HbA1c) no sangue humano. Uso em diagnóstico *in vitro*.

- CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEIO**
- Conservar de 2 a 8 °C
 - Manter ao abrigo da luz.
 - Não congelar.
 - Estável até a data de validade do kit que está impressa no rótulo do embalagem
 - Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.





PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Este método baseia-se na interação de antígeno e anticorpo para a determinação direta da HbA1c no sangue total. A hemoglobina total e a HbA1c têm a mesma taxa de absorção inespecífica às partículas de látex presentes no R1. Quando o anticorpo monoclonal de camundongo anti-HbA1c humana é adicionado (R2), forma-se o complexo látex-HbA1c-anticorpo monoclonal de camundongo anti-HbA1c humana. A aglutinação ocorre quando o anticorpo polidonal de cabra interage com o anticorpo monoclonal de camundongo. A aglutinação leva à turbidez que pode ser medida em absorbância no espectrômetro.

AMOSTRAS: TIPO COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO

Tipo de Amostra: Sangue total com EDTA.
Coleta, manuseio e preparo: Realizar a coleta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
Preservação: Estável 7 dias em armazenada de 2 a 8 °C

DESCRÇÃO DO PRODUTO

R 1	Látex, Tampão Glicídico.	
R 2	Tampão Glicídico, anticorpo monoclonal de camundongo anti-HbA1c humana, anticorpo polidonal de cabra anti-IgG de camundongo, estabilizantes.	
R HML	Água purificada, estabilizantes.	
CONTROL	Sangue total humano, glicose e estabilizantes	

ESTABILIDADE E MISO

- R1, R2 e CONTROL estável 30 dias, desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
- RHM, estável 24 meses, desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
- Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.

TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO

A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES
R1 e R2
Reagentes líquidos prontos para uso. Homogeneizar suavemente os reagentes antes de usar.

CONTROL
O controle é lio diluído. Retirar do refrigerador e deixar em temperatura de 10 a 30 °C por 10 minutos. Reconstituir com 0,5 mL de água purificada. Deixar em repouso por 30 minutos. Homogeneizar suavemente por inversão até dissolução completa. Após reconstituição, o controle é estável por 30 dias sem manido entre 2 a 8 °C.

B) INTERVALO DE OPERAÇÃO

O intervalo operacional do produto é de 2% a 16%

CONTROL DE QUALIDADE

O uso de controle deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor em outra faixa de significância clínica. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratório recomenda-se o uso do soro calibrador e dos soros controle abaixo:

HbA1c Plus	21.009.00
HbA1c Plus CONTROL	20.025.00

PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO
HEMOLÍSE

O procedimento de hemólise deve ser aplicado às amostras, controles e calibradores, conforme descrito abaixo:

- 1- Pipetar 1,0 mL de RHM em tubos de ensaio para cada amostra, controle e calibrador.
- 2- Homogeneizar o sangue total, pipetar 20 µL nos respectivos tubos e agitar.
- 3- Manter os tubos em repouso por 5 minutos para ocorrer a hemólise completa. Os hemolisados são estáveis 7 dias entre 2 e 8 °C

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Utilizar o Set de Calibração HbA1c - CAT BT 21.009.00

Ponto 0	NaCl 0,9%
Ponto 1	Nível 1
Ponto 2	Nível 2
Ponto 3	Nível 3
Ponto 4	Nível 4

É necessário realizar hemólise dos calibradores conforme descrito acima.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

- 1- Aquecer por 3 minutos o R1 a 37 °C
- 2- Pipetar em tubos de ensaio

	Branco	Calibradores	Amostra
R1	720 µL	720 µL	720 µL
Calibrador	---	20 µL	---
Amostra	---	---	20 µL

- 3- Incubar a 37 °C por 5 minutos
- 4- Homogeneizar e incubar a 37 °C por 5 minutos
- 5- Medir a absorbância dos calibradores (em ordem crescente de concentração) e das amostras frente ao branco em 630 (600 a 660) nm

B) CÁLCULOS

Obter a curva de calibração plotando no eixo X as concentrações de cada calibrador e no eixo Y o valor da absorbância respectiva. Determinar a concentração das amostras através da interpolação dos valores obtidos na curva de calibração.

C) INTERPRETAÇÃO

A glicosemglobina ou hemoglobina glicada é um marcador importante para o monitoramento de pacientes diabéticos. Durante a vida circulatoria dos glóbulos vermelhos, a HbA1c é formada continuamente pela ligação da glicose ao terminal valina da cadeia beta da hemoglobina. Este processo reflete uma "média" da exposição da hemoglobina à glicose por um extenso período. A taxa de produção é dependente do nível de glicose sanguínea e da vida média das hemácias (aproximadamente 120 dias). Dessa forma, reflete os valores integrados da glicose correspondentes às últimas 6 a 8 semanas. A dosagem de glicosemglobina presta-se exclusivamente à monitoração de pacientes diabéticos não devendo ser utilizado como exame auxiliar no diagnóstico do diabetes melittus. Fatores que alteram a sobrevivência das hemácias como hemoglobinopatias são possíveis interferentes da dosagem de glicosemglobina. O presente método utiliza a interação antígeno com anticorpo, determinando especificamente a fração HbA1c.

INTERFERENTES OU CONTRAINDICAÇÕES

Anticoagulantes: Heparina, Gtrato, Fluoreto e Oxalato não devem ser utilizados, pois interferem na dosagem.

Hemólise, Ictericidade e Lipemia: Triglicérides > 2000 mg/dL / Bilirrubina > 50 mg/dL / Ácido ascórbico > 50 mg/dL / Hemoglobina na carbamida > 7,5 mmol/L / Hemoglobina na acetilida > 5,0 mmol/L

Medicamentos: consultar referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).
Resultados inconsistentes podem ocorrer em pacientes nas seguintes condições:
- Uso de opiáceos, envenenamento por chumbo, alcoolismo e ingestão de elevadas quantidades de ácido acetilsalicílico
- Níveis elevados de Hemoglobina no Fetoal (HbF) podem levar a resultados diminuídos de HbA1c.
- As variantes, hemoglobina S (HbS), hemoglobina A2 (HbA2) e intermediárias lábeis da hemoglobina na glicosilada (base de Schiff) não são detectadas neste método e não interferem na determinação.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade Analítica: 1,8%
Especificidade Analítica: O produto determina especificamente HbA1c na presença de outras substâncias interferentes na amostra, até as concentrações recomendadas de 45 mg/dL.
Exatidão: O método foi comparado com método sínilar para a determinação de 45 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão y = 1,0695x - 0,311 e coeficiente de correlação r=0,9677.
Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra em um mesmo dia, com valores dentro da faixa de referência, mostra um Coeficiente de Variação de 3,83%
Reprodutibilidade: A realização de 10 determinações de uma mesma amostra, analisada em dias diferentes, mostra um Coeficiente de Variação de 1,82%

RISCOS RESIUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os ER's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico
- Não misturar reagentes de lotes diferentes.

- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na RSPQ do produto.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- Usar pipetas de vidro e pontetras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.
- O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de partícula para a água antes do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

Individuos Não Diabéticos	4,0% a 6,0%
Individuos Diabéticos em Controle Glicêmico	
Adultos	inferior a 7,0%
0 a 6 anos	Entre 7,5 e 8,5%
6 a 12 anos	inferior a 8,0%
13 a 19 anos	inferior a 7,5%
Idosos	inferior a 8,0%

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 630 nm (600 - 660).
- Banho de água, termostaticado a 37 °C
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Rótulos ou Cronômetro.
- Tubos de ensaio

ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO

- As instruções de Descarte, Segurança e Precauções Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (RSPQ) deste produto disponível em www.biotecnica.ind.br ou pelo telefone (35)-3214-4646.
- Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Biotécnica são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições especificadas. Os dados relativos ao Controle de Qualidade deste produto (depresso nas etiquetas dos frascos de reagentes) ou qualquer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Técnica da Biotécnica Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo e-mail sac@biotecnicatda.com.br

AUTOMATIZAÇÃO

Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores. Os procedimentos estão disponíveis em www.biotecnica.ind.br

ENGLISH

INTENDED USE
Kit intended to the quantitative determination of the Hemoglobin A1c (HbA1c) in human blood. Diagnostic use only.

STORAGE AND HANDLING
Store at 2 to 8 °C.
Protect from light.
Do not freeze.

Stable until the kit expiration date that is printed on the label.
Do not use reagents whose date has expired.

WORKING PRINCIPLE

This method is based in the interaction of antigen-antibody to the direct determination of HbA1c in total blood. The total hemoglobin has the same nonspecific absorption rate of the latex particles present in R1. When the mouse monoclonal antibody anti-human HbA1c is added (R2) the complex latex+HbA1c+mouse monoclonal antibody anti-human HbA1c is formed. The agglutination occurs when the goat polydonal antibody interacts with the mouse monoclonal antibody. Agglutination leads to turbidity which can be measured in absorbance spectrophotometer.





SAMPLE - PREPARATION AND STABILITY

Sample Type: Total Blood with EDTA

Collection, handling and preparation: Make the collection of the sample in accordance with Good Laboratory Practice. The samples to be analyzed should be treated as potentially infectious material.

Preservation: Stable for 7 days at 2 to 8 °C

PRODUCT DESCRIPTION

R 1	Latex, glycol buffer.	
R 2	Glycol buffer, Mouse monoclonal antibody anti-human HbA1c, goat polydonal antibody anti-mouse IgG stabilizers.	
R HML	Purified Water, Stabilizer agents.	
CONTROL	Human total blood, glucose, stabilizer agents.	

STABILITY USE

- R1, R2 and CONTROL in use is 30 days as long as followed by the recommended storage conditions (2 to 8 °C).
- RHM in use is 24 months as long as followed by the recommended storage conditions (2 to 8 °C).

- Reagents must remain outside the specified temperature only the time required for testing.

TECHNICAL PROCEDURE

A) REAGENT PREPARATION
R1 and R2
R1 and R2 are ready to use. Homogenize gently.

CONTROL

The control is lyophilized. Put at room temperature (10 to 30 °C) for 10 minutes. Reconstitute the lyophilized with 0,5 mL of purified water. Let it rest for 30 minutes. Homogenize it gently by inversion until the full dissolution. After reconstitution the control is stable for 30 days if stored at 2 to 8 °C

B) OPERATING RANGE

The product operating range is from 2% to 16%

QUALITY CONTROL

Use of controls should be a routine practice in the lab. It is suggested to use a control within the reference range or decision level and another control with value in another range of clinical significance. For the internal quality control of the lab it is indicated the use of the calibrator serum and control sera below.

HbA1c Calibrator Set	21.009.00
HbA1c Plus CONTROL	20.025.00

TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION

A) TEST PROCEDURE

HEMOLYSIS

- The procedure of hemolysis must be applied on samples, control and calibrators, as described below:
- 1 - Pipette 1,0 mL of RHM in assay tubes to each sample, control and calibrator.
 - 2 - Homogenize the Total Blood, pipette 20 µL in each tube and shake.
 - 3 - Let the tubes rest for 5 minutes to complete the hemolysis fully. The hemolyzed samples are stable for 7 days at 2 to 8 °C

CALIBRATION CURVE

Use the HbA1c Calibrator on Set. CAT BT 21.009.00

Point 0	NaCl 0,9%
Point 1	Level 1
Point 2	Level 2
Point 3	Level 3
Point 4	Level 4

Note: It's necessary to proceed with calibrators hemolysis as described above.

ASSAY

- 1- Heat the Reagent 1 for 3 minutes at 37 °C
- 2- Pipette in the assay tube:

	Blank	Calibrators	Sample
R1	720 µL	720 µL	720 µL
Calibrator	---	20 µL	---
Sample	---	---	20 µL

- 3- Incubate 5 minutes at 37 °C

Reagent 2	240 µL	240 µL	240 µL

4- Homogenize and incubate 5 minutes at 37 °C
5- Measure the absorbance of the calibrators (in increasing order of concentration) and of the samples against the blank at 630 nm (600-660 nm).

B) CALCULATION
Obtain the calibration curve by plotting on X axis the concentration of each calibrator and on Y axis the value of the respective absorbance. Determine the concentration of the samples by interpretation of the absorbance sample values in the calibration curve.

Q) INTERPRETATION

Glycohemoglobin is the most important marker to monitor diabetic patients. During the circulatory life of the red cells the HbA1c is continually formed by the addition of glucose in the non-terminal portion of the beta-subunit of hemoglobin. This process reflects an average of the exposition of the hemoglobin to the glucose for a long period. Glycohemoglobin formation is dependent of glucose levels and half-life of hematis (about 120 days). Thus it reflects the glucose levels of 6 to 8 weeks before the dosage. This dosage must be used exclusively to monitor diabetic patients, and can not be used in to confirm the diabetes mellitus diagnosis. Factor that influence the half-life of hematis as well as hemoglobinopatias are possible interferences to the

dosage This method uses the antigen – antibody interaction, determining exclusively the HbA1c fraction.

INTERFERENCIAS Y LIMITACIONES

Anticoagulantes: Heparina, Citrato, Fluoruro y Oxalato no deben utilizarse debido a su interferencia en el dosaje.

Hemólisis, Jaundicia y Lipemia: Ser suero Jaundice > 2000 mg/dL / Triglicéridos > 50 mg/dL / Ascorbic ácido > 50 mg/dL / Carbohidrato > 7,5 mmol/L / Hemoglobina acetylated > 5,0 mmol/L

Drugs: see recommended reference (Young, 2000).

Inconsistent results may occur in patients in the following conditions:

- Use of opiates, diuretics, alcoholism, high doses of acetylsalicylic acid
- High levels of fat in hemoglobin (HbF) may lead to decreased results of HbA1c
- The variant hemoglobin: Hemoglobin S (HbS) and Hemoglobin A2 (HbA2) and labile intermed品 are from glycosylated hemoglobin (Schiff base) are not detected in this immunoassay and do not interfere in the determination.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity: 1,8%
Analytical Specificity: The product determines HbA1c specifically in the presence of other interfering substances in the sample up to the concentrations stated above.

Accuracy: The method was compared with a similar method for the determination of 45 samples in duplicate. The regression equation obtained was y = 1,0695x - 0,311 and the correlation coefficient r = 0,9677.

Intra-Assay: The realization of 20 determinations of the same sample at the same day showed a Coefficient of Variation of 3,83%.

Inter-Assay: The realization of 10 determinations of the same sample at different days showed a Coefficient of Variation of 1,82%.

RESIDUAL RISKS, WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Use Protective Equipment in accordance with Good Laboratory Practice
- Do not mix reagents from different lots.
- Do not exchange the caps from different reagents in order to avoid cross contamination
- Do not use the reagent if it displays any signs of damage with the one specified in the product MSDS.
- Avoid leaving reagents out of the specified storage conditions, when they are not in use.
- Use glass pipettes and disposable tips for each sample control, standard / calibrator and reagent.
- The level of the water bath must be greater than the test tubes containing the reaction.
- The level of water in the thermostatic bath must be over the level of mix reaction with in the assay tubes.
- The laboratory should establish chemical, microbiological and particulates requirements for the water prior to its use for each of its applications and must define the specifications or types of water that meets them. Once the required purity has been set, the purification system must be validated and it is important to ensure that the resulting water continues to meet specifications by means of periodic checks.
- The cleaning and drying of the lab material are fundamental factors for the stability of the reagents and reaching correct results.

REFERENCE RANGES

Non-diabetic individuals	4,0% to 6,0%
Diabetic individuals in Glucemic Control	
Adults	Less than 7,0%
0 up to 6 years old	Between 7,5 and 8,5%
6 up to 12 years old	Less than 8,0%
13 up to 19 years old	Less than 7,5%
Bilirubin	Less than 8,0%

These values are intended for orientation only. It is recommended that each lab establishes its own reference range.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or photometer with a thermostatic cuvette holder to read at 630 nm (600 – 660).
- Thermostatic water bath at 37 °C
- Glass pipettes and/or automatic
- Clock or chronometer.
- Assay tubes

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Discard the reaction surplus according to Good Laboratory Practice in a proper place for potentially infective material.
- The information for Disposal, Security and First Aid are described in the Manual Safety Data Sheet (MSDS) of this product available at www.bioteccaltda.com or calling for 55-35-3214-4646

QUALITY ASSURANCE / CUSTOMER TECHNICAL SERVICE

Before being approved for use, biotechnical reagents are tested in the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured up to the expiry date stated in the label of the external packaging, since it is stored and transported in the specified conditions. The quality control data concerning this product (batch printed on the labels of reagent bottles) or any technical doubt on handling this product or this procedure, contact us calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail: sac@bioteccaltda.com

AUTOMATION

This product is compatible to the most types of biochemical automatic analysers. The applications are available at www.bioteccaltda.com

ESPAÑOL

FINANCIADO

Kit destinado a la determinación cuantitativa de la Hemoglobina Glicada (HbA1c) en sangre humana. Uso en diagnóstico *in vitro*.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conservar de 2 a 8 °C
- Mantener al abrigo de la luz.
- No congelar.
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado. Estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El método utiliza la reacción antigeno-anticuerpo para la determinación directa de la hemoglobina A1c (HbA1c) en sangre entera. La hemoglobina total y la HbA1c tienen la misma tasa de absorción específica para las partículas de látex presentes en el reactivo R1. Cuando el anticuerpo monoclonal de ratón anti-HbA1c humana, es adicionado (R2), se forma el complejo látex-HbA1c-anticuerpo monoclonal de ratón anti-HbA1c humana. La aglutinación ocurre cuando el anticuerpo policlonal de cabra reacciona con el anticuerpo monoclonal de ratón. La cantidad de aglutinación formada es proporcional a la concentración de HbA1c en la muestra y puede ser medida en espectrofotómetro.





MUESTRAS: TIPO, COLECCIÓN, MANEJO, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN

Tiempo de Muestra: Sangre entera con EDTA

Recolección, manipulación y preparación: Realizar la recolección de las muestras de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínicas. Las muestras analizadas deben ser tratadas como material potencialmente infectantes.

Conservación: es estable en el 100% de conservación a temperatura de 2 a 8 °C

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

R 1	Látex, Tampón Glúcido.	
R 2	Tampón Glúcido, anticuerpo monoclonal de ratón anti-HbA1c humana, anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón, estabilizantes.	
RHML	Agua purificada, estabilizantes.	
CONTROL	Sangre entera humana, glucosa y estabilizantes	

La determinación de Ferritin es rastreable el material de referencia 2nd Internacional Ferritin Standard (85/578) from WHO (1992).

ESTABILIDAD EN USO

- R1, R2 y CONTROL 30 días, almacenados en las condiciones recomendadas (2 a 8 °C).
- RHM 24 meses, almacenados en las condiciones recomendadas (2 a 8 °C).
- Los reactivos deben permanecer fuera de la temperatura especificada solamente el tiempo necesario para la realización de los ensayos.

INSTRUCCIONES PARA USO

A) PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

R1 y R2

Los reactivos R1 y R2 son líquidos listos para uso. Homogenizar suavemente los reactivos antes de usar.

CONTROL

El control es diluido. Retirar del refrigerador y permitir que tome temperatura de 10 a 30 °C por 10 minutos. Reconstituir con 0,5 mL de agua purificada. Dejar en reposo por 30 minutos. Homogenizar suavemente y por inversión hasta disolución completa. Después de reconstituir el estable 30 días conservado de 2 a 8 °C.

B) INTERVALO OPERATIVO

El intervalo operativo del producto es de 2% a 16%

CONTROL DE CALIDAD

El uso de control debe ser práctica rutinaria en el laboratorio. Se sugiere usar un control en la ficha de referencia o en el nivel de decisión y otro control con valor en otra ficha de significado clínico. Para Calibración y Control Interno de Calidad de Laboratorio se recomienda el uso del suero calibrador y de los sueros control es abajo.
Set de Calibrador de HbA1c HbA1c Plus CONTROL REF 21.009.00 20.025.00

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO, CÁLCULOS E INTERPRETACIÓN

A) PROCEDIMIENTO

HEMÓLISIS
El procedimiento de hemólisis deberá ser aplicado a las muestras, control y calibradores de la siguiente manera:

- 1- Pipetear 1,0 mL de RHM, entubos de ensayo, para cada muestra, control y calibrador.
- 2- Homogenizar la sangre total y pipetear 20 µL en los respectivos tubos y agitar.
- 3- Mantener los tubos en reposo por 5 min para que ocurra la hemólisis completa. Los hemólisis son estables 7 días entre 2 y 8 °C.

CURVA DE CALIBRACIÓN

Non-Diabéticos		4,0% a 6,0%	
Individuos		Individuos	
Adultos	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%
0 a 6 años	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%
6 a 12 años	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%
13 a 19 años	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%
Anclados	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%

Es necesario realizar la hemólisis de los calibradores como descrito por encima.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

- 1- Pre-calcular por 3 minutos el Reactivo y a 37 °C
- 2- Pipetear en una cubeta de ensayo.

	Banco	Calibradores	Muestra
R1	720 µL	720 µL	720 µL
Calibrador	---	20 µL	---
Muestra	---	---	20 µL

3- Incubar a 37 °C por 5 min.

R2	240 µL	240 µL	240 µL
----	--------	--------	--------

4- Homogenizar e incubar a 37 °C por 5 min.

5- Medir la absorbancia de los calibradores (en orden creciente de concentración) y de las muestras contra el Blanco en 630 (600 a 660) nm

B) CÁLCULOS

Obtener el curva de calibración representando en el eje X las concentraciones de cada calibrador y en el eje Y la absorbancia correspondiente. Determinar la concentración de las muestras por interpolación de las lecturas de absorbancia obtenidas para las mismas en la curva de calibración.

Q) INTERPRETACIÓN

La hemoglobina o Hg en hemoglobina glicada es un marcador importante para el seguimiento de pacientes diabéticos. Durante la vida circulatoria de los glóbulos rojos, la HbA1c se forma continuamente mediante la unión de la glucosa al terminal valina de la cadena beta de la hemoglobina. Este proceso refleja un "promedio" de la exposición de la hemoglobina a la glucosa durante un período prolongado. La tasa de producción es dependiente del nivel de glucosa en sangre y de la vida media de los eritrocitos (aproximadamente 120 días). Por lo tanto, reflejará los valores integrados de la glucosa correspondientes a las últimas 6 a 8 semanas. La determinación de glicohemoglobina se aplica exclusivamente a la monitorización de pacientes diabéticos, no debe ser utilizada como examen auxiliar en el diagnóstico de diabetes mellitus. Factores que afectan a la supervivencia de los glóbulos rojos como hemoglobinaopatia son posibles interferentes en la determinación de glicohemoglobina. Este método utiliza la interacción antigeno-anticuerpo para determinar específicamente la fracción HbA1c.

INTERFERENCIAS O LIMITACIONES

Anticoagulantes: Heparina, Citrato, Fluoruro y Oxalato no deben ser utilizados pues interfieren en el ensayo.

Hemólisis, Licitencia y Lipemia: Licitencia > 50 mg/dL, Triglicéridos > 2000 mg/dL, Ácido ascórbico > 50 mg/dL, Hg hemoglobina carboxilada > 7,5 mmol/L, Hg hemoglobina acetylada > 5,0 mmol/L

Medicamentos: consultar la referencia recomendada (Young, 2000).

Resultados inconsistentes pueden ocurrir con pacientes en las siguientes condiciones:

- Adicción a opiáceos, contaminación por plomo, alcoholismo y la ingestión de élvadas cantidades de ácido ascórbico
- Niveles de élvados de Hg hemoglobina Fea (HbF) pueden llevar a resultados disminuidos de HbA1c.
- La hemoglobina en S (HbS), la hemoglobina A2 (HbA2) y compuestos lábiles de hemoglobina glicosilada (base de Schiff) no son detectados por los ensayos inmunométricos, por lo tanto no interfieren en la determinación de HbA1c.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Sensibilidad: 1,8%

Especificidad Analítica: El producto determina específicamente HbA1c ante la presencia de otras sustancias interfirerentes en la muestra, hasta las concentraciones indicadas anteriormente.

Exactitud: El método fue comparado con otro similar determinando 45 muestras en duplicado. Fue obtenido la ecuación de regresión y = 1,0695x-0,311 con un coeficiente de correlación r=0,9677.

Repeetibilidad: La realización de 20 determinaciones de una misma muestra en un único día, con o en dentro del rango de referencia, mostró un Coeficiente de Variación de 3,83%.

Reproducibilidad: La realización de 10 determinaciones de una misma muestra, analizada en días diferentes, mostró un Coeficiente de Variación de 1,82%

RIESGOS RESIDUALES, CUADROS Y PRECAUCIONES

- Utilizar los EPIs de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínicas
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- No contaminar las tapas de los frascos de los reactivos, afin de evitar contaminación cruzada.
- No usar el reactivo cuando presente característica visual en desacuerdo con lo especificado en la RSPQ del producto
- Evitar dejar los reactivos fuera de las condiciones de almacenamiento especificadas, cuando los mismos no estén en uso.
- Usar pipetas de vidrio y punteras desechables específicas para cada muestra control, patrón/calibrador y reactivo
- El nivel de agua del baño maría debe ser superior al de los tubos de ensayo que contienen las reacciones.
- Cada laboratorio debe establecer requisitos químicos, microbiológicos y de partículas para el agua antes de su uso en cada una sus aplicaciones y definir las especificaciones o tipos de agua que atiendan sus requisitos. Una vez que la pureza requerida fue establecida, el sistema de purificación debe ser validado y es importante para asegurar que el agua resultante continúa atendiendo las especificaciones e implementa controles periódicos.
- La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

INTERVALO DE REFERENCIA

Non-Diabéticos		4,0% a 6,0%	
Individuos		Individuos	
Adultos	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%
0 a 6 años	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%
6 a 12 años	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%
13 a 19 años	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%
Anclados	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%	Entre 7,5 y 8,5%

Estos valores son únicamente para orientación, siendo recomendable que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

MATERIAL NECESARIO PARA REALIZAR EL ENSAYO

- Espectrofotómetro o fotómetro para lecturar en 630 nm (600 – 660).
- Baño de agua, termostaticado a 37 °C.

- Pipetas de vidrio y/o automáticas.
- Reloj o Cronómetro
- Tubos de ensayo

ALERTAS Y PRECAUCIONES PARA EL DESCARTE DEL PRODUCTO

- Las instrucciones de Descarte, Seguridad y Primeros Socorros están descritas en la Ficha Individual de Seguridad de Productos Químicos (RSPQ) de este producto, disponible en www.bioteccaltda.com o por teléfono +55 (35)-3214-4646.
- Deshechar las sobras de las reacciones de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínicas (BPLQ) y Programa de Gestión de Residuos de Servicio de Salud (PGRSS).



GARANTÍA DE CALIDAD / SAC - SERVICIO DE ASISTENCIA AL CLIENTE

Antes de ser liberados para consumo, todos los reactivos biotécnicos son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de vencimiento mencionada en el envase, desde que almacenados y transportados en las condiciones especificadas. Los datos relativos al Control de Calidad de este producto (de impresión en las etiquetas de los frascos de reactivos) o cualquier duda en la utilización de este kit, entrar en contacto con la Asesoría Técnica de Biotécnica Ltda, a través del teléfono +55 35 3214 4646 o por e-mail: sac@bioteccaltda.com

AUTOMATIZACIÓN






Este procedimiento es automatizado en la mayoría de los analizadores. Los protocolos están disponibles en www.bioteccaltda.com.

APRESENTACIONES / PRESENTACIONES

1	R1	1 x 15 mL		20 (1 mL)
	R2	1 x 5 mL		
	RHML	1 x 50 mL		
CONTROL		1 x 0,5 mL		25
2	R1	1 x 30 mL		40 (1 mL)
	R2	1 x 10 mL		
	RHML	1 x 100 mL		
CONTROL		1 x 0,5 mL		25

REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS / REFERENCIAS / REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Clínic practice recommendations (Position Statement). **Diabetes Care** v.24 (Suppl. 1), p.S33-S55, 2001.
- BURTSCH, C.A.; ASHWOOD, E.R.; BRUNS, D.E.; Teit Fundamentals of Clinical Chemistry, M:Saunders Company, 2008, 397.
- CERELLO, A. et al. Increased glycosylated hemoglobin in A1 in spite of adds: evidence for a hyperglycemic effect of morphine. **Diabetologia** v.22, n.5, p.379, 1982.
- ENGBAOK, F.; CHRISTENSEN, S.E.; JENSEN, E. Enzyme immunoassay of hemoglobin A1c: analytical characteristics and clinical performance for patients with diabetes mellitus, with and without uremia. **Am J Chem** v.35, p.93-97, 1989.
- FLUCKER, R. et al. Hemoglobin carboxylation in uremia. **N Engl. J. Med.** v.304, p.823-827, 1981.
- GABBAY, K.H. et al. Glycosylated hemoglobin and long-term blood glucose control in diabetes mellitus. **J. Clin Endocrinol. Metab** v.44, p.859-864, 1977.
- GONEN, B.; RUBENSTEIN, A.H. Hemoglobin A1c and diabetes mellitus. **Diabetologia** v.15, p.1-8, 1978.
- Grupo Interdisciplinar de Padronização da Hemoglobina Glicada A1c. 2009. www.spbc.org.br (Publicações Técnicas)
- LITTLE, R.R. et al. Interlaboratory standardization of glycosylated hemoglobin in determinations. **Clin Chem** v.32, p.358-360, 1986.
- NATHAN, D.M.; FRANCOIS, T.B.; PALMER, J.L. Effect of aspirin on determinations of glycosylated hemoglobin. **Clin Chem** v.29, p.466-469, 1983.
- TRIVELLI, L.A.; RANNEY, H.M.; LA, H.T. Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus. **N Engl. J. Med.** v.284, p.353-357, 1971.
- BURTSCH, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Textbook of clinical chemistry**, 4 ed. Philadelphia: W.B Saunders, 1994, 836p.
- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- WESTGARD, J.O. et al. Multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. **Clin Chem** v.27 p.493-501, 1981.
-

TABELA DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS / TABLE OF INTERNATIONAL SYMBOLS / TABELA DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS			
REF	Código Code Código		Conteúdo suficiente para «tests» Contentão suficiente para «ensayos»
LOT	Número de lote Batchcode Denominação de lote		Límite de temperatura Temperatura limite Use by last day of the month
IVD	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i> For <i>in vitro</i> diagnostic medical device Para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		Data limite de utilização (último dia do mês) Use by last day of the month Estável hasta (último día del mes)
	Risco biológico Biological risk Riesgo biológico		Noivo / Irritante Harml / Irritant Noivo / Irritante
R <N>	Reagente e seu número/abreviação Reagent and its number/abbreviaton Reactivo y su número/abreviación	CAL	Calibrador Calibrator Calibrador