

**USO DE LA PRUEBA**

La prueba rápida HbA1c en casete (Sangre Completa) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la estimación semicuantitativa de HbA1c humano en sangre total como una ayuda en el monitoreo de la diabetes mellitus.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA**

La hemoglobina glucosilada (hemoglobina A1c, HbA1c, A1C o Hb1c; a veces también conocida como Hb1c o HGBA1C) es una forma de hemoglobina que se mide principalmente para identificar la concentración media de glucosa plasmática de tres meses. La prueba se limita a un promedio de tres meses porque la vida útil de un glóbulo rojo es de cuatro meses (120 días). Sin embargo, dado que los glóbulos rojos no todos sufren lisis al mismo tiempo, HbA1c se toma como una medida limitada de tres meses. Se forma en una vía de glicación no enzimática por la exposición de la hemoglobina a la glucosa plasmática.

HbA1c es una medida del componente beta-N-1-deoxy fructosil de la hemoglobina<sup>1</sup>. El origen de la denominación deriva de la hemoglobina tipo A que se separa en la cromatografía de intercambio catiónico. La primera fracción para separar, probablemente considerada como hemoglobina pura A, fue designada HbA0, las siguientes fracciones fueron designadas HbA1a, HbA1b, y HbA1c, respectivamente de su orden de elución. Posteriormente ha habido muchas más subfracciones a medida que las técnicas de separación han mejorado<sup>2</sup>. Los niveles normales de glucosa producen una cantidad normal de hemoglobina glucosilada. A medida que aumenta la cantidad media de glucosa plasmática, la fracción de hemoglobina glucosilada aumenta de manera predecible. Esto sirve como un indicador de que el azúcar en la sangre está aumentando y que se deben tomar medidas.

En la diabetes mellitus, mayores cantidades de hemoglobina glucosilada, indica un control más pobre de los niveles de glucosa en sangre, que se han asociado con enfermedades cardiovasculares, nefropatía, neuropatía y retinopatía. Un ensayo en un grupo de pacientes con diabetes tipo 1 encontró que el monitoreo por parte de los cuidadores de HbA1c condujo a cambios en el tratamiento de la diabetes y mejora del control metabólico en comparación con el monitoreo sólo de glucosa en sangre u orina<sup>3</sup>. Sin embargo, un ensayo diseñado específicamente para determinar si la reducción de HbA1c por debajo del 6% normal, utilizando principalmente insulina y sulfonilureas (ambos conocidos para conducir fácilmente el azúcar en la sangre demasiado bajo), reduciría la tasa de eventos cardiovasculares en la diabetes tipo 2 que se encontró una mayor mortalidad— el ensayo se terminó antes<sup>4</sup>. Los resultados negativos bien pueden haber sido el resultado del enfoque de tratamiento, principalmente insulina y sulfonilureas, utilizado en el grupo de tratamiento "intensivo" en lugar de LCHF (por sus siglas en inglés Low-Carbohydrate High Fat diet. Dieta baja en carbohidratos de grasa), análogos GIP-1 e inhibidores de SGLT-2, ninguno de los cuales tiene estos problemas y menor mortalidad cardiovascular.

**PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba rápida HbA1c en casete (Sangre Total) es un inmunoensayo semicuantitativo basado en membrana para la detección de HbA1c en sangre total humana. La membrana está pre-recubierta con anticuerpos anti-hemoglobina. Durante las pruebas, el HbA1c en muestra de sangre total reacciona con la parte anti-HbA1c del conjugado de tinte, que ha sido impregnado en la almohadilla conjugada. La mezcla entonces migra hacia arriba en la membrana por acción capilar, reacciona con anti-hemoglobina en la membrana en la región de la línea de ensayo. Si la muestra contiene HbA1c, aparecerá una línea de

color en la región de la línea de prueba. La ausencia de las líneas de color en la región de la línea de ensayo indica que la muestra no contiene HbA1c, o la concentración de HbA1c es menor que el valor de corte. Para servir como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control que indica que se ha añadido el volumen adecuado de la muestra y se ha producido la absorción de membranas.

**PRESENTACIONES**

1. Caja con 10 pruebas.
2. Instructivo de uso.
3. Tubo colector con Buffer.
4. Tubo capilar.
5. Tarjeta de color.

**MATERIALES INCLUIDOS POR SOBRE METALIZADO**

- Casete empacado individualmente.
- Desecante de sílica.
- Pipeta .

**ALMACENAMIENTO**

Almacene la prueba de 2-30°C. Debe evitarse la congelación.

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

- Sólo para uso de diagnóstico *in vitro* profesional. No usar después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en la zona donde se manipulan las muestras o kits.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observar las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos a lo largo de todos los procedimientos y seguir los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen muestras.
- La prueba utilizada debe descartarse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

**RECOLECCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA****Preparación**

Antes de realizar la prueba, asegúrese de que todos los componentes se llevan a temperatura ambiente (15-30°C).

1. Retire un tubo con solución buffer del kit. Documente el nombre o la identificación de los pacientes en él. Abra la tapa del tornillo.

**Recolección de Muestra de Sangre**

2. Recolectar la muestra de acuerdo con los procedimientos estándar.
- No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. La sangre total recolectada por la venopunción debe almacenarse de 2-8°C si la prueba debe utilizarse dentro de los 3 días posteriores a la recolección. No congele muestras de sangre totales.
- Se pueden utilizar como anticoagulantes EDTA K2, Heparina sódica, Citrato sódico y Oxalato de potasio.

**Disolución de Muestras / Estabilidad en las Muestras**

3. Administre el capilar de extremo a extremo lleno de sangre en el tubo de plástico con buffer de dilución. Alternativamente, la muestra de **10 µL** se puede añadir directamente con la pipeta en el buffer.
4. Cierre el tubo y agite la muestra con fuerza durante aproximadamente **10 segundos** para que la muestra y el buffer de dilución se mezclen bien.

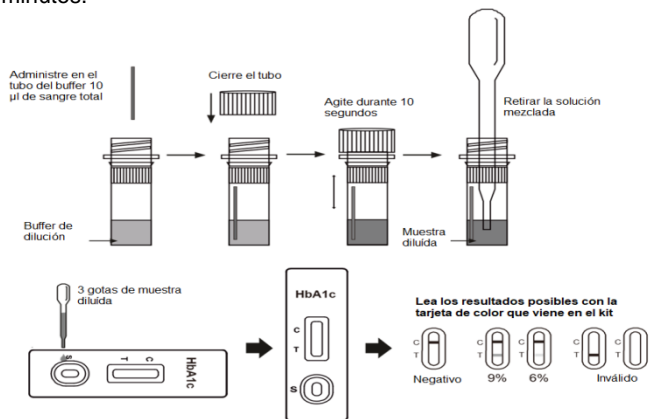
5. Deje reposar la muestra diluida durante aproximadamente 1 minuto.

La muestra diluida se puede utilizar inmediatamente o almacenar durante un máximo de 24 horas a 2-8°C.

### DESARROLLO DE LA PRUEBA

Lleve las pruebas, las muestras, el buffer y/o los controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de su uso.

1. Retire el casete de prueba de su bolsa sellada y colóquelo sobre una superficie limpia y nivelada. Para obtener los mejores resultados, el ensayo debe realizarse en el plazo de una hora.
2. Abra el tubo con la muestra diluida. Transfiera **3 gotas (aprox. 120 µl)** de la muestra diluida al pocillo de muestra. Encienda el temporizador.
3. Espere a que aparezcan las líneas de color. **El resultado debe leerse a los 10 minutos.** No interprete los resultados a los 20 minutos.



### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

**POSITIVO:** \* Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región de línea de prueba (T).

**\*NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de ensayo (T) variará dependiendo de la concentración de HbA1c presente en la muestra. Lea los resultados positivos con la ayuda de la tarjeta de color proporcionada en el kit como referencia para confirmar la concentración de HbA1c en toda la muestra de sangre.

**NEGATIVO:** Aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de línea de prueba (T) o la línea de prueba es más débil que la línea de referencia que representa el 6% en la tarjeta de color. Esto indica que HbA1c está a un nivel saludable, lo que significa un excelente control.

**INVÁLIDO:** La línea de control no puede aparecer. El volumen insuficiente de la muestra o las técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para el fallo de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor local.

### PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

Los controles de procedimiento internos se incluyen en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control de procedimiento válido interno. Confirma suficiente volumen de muestras y técnica de procedimiento correcta.

Las normas de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El cassette de prueba rápida HbA1c (sangre total) es para uso diagnóstico in vitro profesional, y solo debe utilizarse para la estimación semicuantitativa de HbA1c.
2. La prueba rápida de HbA1c en casete (Sangre Total) sólo proporcionará estimación semicuantitativa de HbA1c en la muestra para ser <6%, 6%-9% o >9% y no debe utilizarse como único criterio para evaluar la diabetes. Los laboratorios pueden tener sus valores de referencia separados para que HbA1c esté bajo control.
3. Al igual que con todas las pruebas diagnósticas, un diagnóstico confirmado sólo debe ser realizado por un médico después de que se hayan evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
4. La prueba rápida de HbA1c en casete (sangre total) está diseñada para trabajar con nivel de hematocrito entre 25% y 65%. El rendimiento de este kit de prueba en un nivel de hematocrito diferente puede dar lugar a resultados erróneos.

### REFERENCIAS

1. Miedema K (2005). "Standardization of HbA1c and Optimal Range of Monitoring". Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 240:61-72.
2. Peterson KP, Pavlovich JG, Goldstein D, Little R, England J, Peterson CM (1998). "What is hemoglobin A1c? An analysis of glycosylated hemoglobins by electrospray ionization mass spectrometry". Clinical Chemistry. 44 (9): 1951-58.
3. Larsen ML, Hørder M, Mogensen EF (1990). "Effect of long-term monitoring of glycosylated haemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus". N. Engl. J. Med. 323 (15): 1021-25.
4. Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, et al. (2008). "Effects of Intensive Glucose Lowering in Type 2 Diabetes". New England Journal of Medicine. 358(24): 2545-59.

