

# HbA1c

## Hemoglobina A1c (FIA)

REF: IN067701



25

### Uso previsto

El HbA1c es un inmunoensayo de fluorescencia para la determinación cuantitativa in vitro de la hemoglobina A1c (HbA1c) cardiaca en sangre total humana. El sistema está diseñado para uso profesional en un laboratorio clínico o en puntos de atención. La medición de la hemoglobina A1c se utiliza para el diagnóstico de la diabetes y para monitorizar el control de la glucemia a largo plazo.

### Resumen

La hemoglobina (Hb) es una proteína roja pigmentada que contiene hierro y se encuentra en los eritrocitos. Su función principal es transportar oxígeno y dióxido de carbono en la sangre. La Hb se compone de diversas variantes (como la HbA del adulto y la HbF del feto) y derivados (por ejemplo, acetilada, glicosilada).

La HbA constituye la mayor fracción (> 95 %) de la Hb en sujetos adultos y consta de 4 cadenas proteicas (2 cadenas alfa, 2 cadenas beta). La HbA1c es una de las hemoglobinas glicosiladas, una subfracción formada por la unión de varios azúcares a la molécula de HbA. La HbA1c se forma en dos pasos por la reacción no enzimática de la glucosa con el grupo amino Nterminal de la cadena beta de la Hb normal del adulto (HbA). El primer paso es reversible y produce HbA1c lábil. Esta se reorganiza para formar HbA1c estable en un segundo paso de la reacción. En los eritrocitos, la cantidad relativa de HbA convertida en HbA1c estable aumenta con la concentración media de glucosa en la sangre. La conversión en HbA1c estable está limitada por la vida útil del eritrocito, que es de aproximadamente 100 a 120 días. Como resultado, la HbA1c refleja el nivel medio de glucosa en sangre durante los 2 o 3 meses anteriores, en lugar de las variaciones diarias de los niveles de glucosa en sangre. Por lo tanto, la HbA1c es adecuada para monitorizar el control de la glucemia a largo plazo en individuos con diabetes mellitus.

### Principio de prueba

Duración total del ensayo: 12 minutos

La muestra se añade al pocillo de muestras de la prueba y, a continuación, el anticuerpo detector de HbA1c marcado con fluorescencia se une al antígeno de HbA1c de la muestra de sangre. A medida que la mezcla de la muestra migra sobre la matriz de nitrocelulosa de la tira reactiva por acción capilar, los complejos del anticuerpo detector y la HbA1c son capturados por el anticuerpo HbA1c que ha sido inmovilizado en la tira reactiva. Cuanto más antígeno de HbA1c haya en la muestra de sangre, más complejos se acumularán en la tira reactiva. La intensidad de la señal de fluorescencia del anticuerpo detector refleja la cantidad de HbA1c capturada. El valor de hemoglobina A1c se mide utilizando una relación entre las concentraciones de HbA1c y la hemoglobina total mediante el instrumento para pruebas.

### Reactivos

#### Material suministrado

- **Cartucho de prueba**, 25 unidades, envasadas individualmente.
- **Chip de identificación**, 1 unidad
- **Buffer de las muestras**, 25 tubos
- IFU, 1 copia

#### Materiales necesarios (pero no proporcionados)

- Analizador 2020 FIA
- Cámara de incubación
- Dispositivo de punción desechable de un solo uso
- Juego de pipetas de transferencia (tamaño 100 µL)
- Pastillas de alcohol
- Temporizador

### Precauciones y advertencias

- Sólo para uso diagnóstico in vitro.
- Siga atentamente las instrucciones y procedimientos descritos en este manual antes de realizar las pruebas
- El cartucho de prueba debe permanecer en su bolsa original sellada hasta el momento de su uso. No lo utilice si la bolsa está dañada o el precinto está roto.
- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No mezcle ni utilice componentes de kits con Lotes diferentes.
- No utilice el cartucho de prueba si su lote no coincide con el chip de identificación insertado en el instrumento.
- El ensayo HbA1c sólo debe utilizarse junto con el instrumento para pruebas.
- Las pruebas deben ser aplicadas por personal profesionalmente formado que trabaje en laboratorios certificados a cierta distancia del paciente y de la clínica en la que el personal médico cualificado toma la muestra.
- HbA1c es de un solo uso. No lo reutilice.
- El cartucho de prueba y el analizador deben utilizarse lejos de vibraciones y campos magnéticos. Durante el uso normal, el cartucho de prueba puede introducir pequeñas vibraciones, que deben considerarse normales.
- Utilice puntas de pipeta y viales de buffer detector limpios y separados para muestras diferentes. Las puntas de pipeta y los viales de buffer detector deben utilizarse para una sola muestra.
- Las muestras de sangre, los cartuchos de prueba usados, las puntas de pipeta y los viales de buffer detector son potencialmente infecciosos. Deben seguirse las técnicas de seguridad de laboratorio adecuadas, así como los métodos de manipulación y eliminación, de acuerdo con los procedimientos estándar y la normativa pertinente observada por los materiales de riesgo microbiológico.
- Los resultados deben ser interpretados por el médico junto con los hallazgos clínicos y los resultados de otras pruebas de laboratorio.

### Informe del incidente

Cualquier sospecha de incidentes graves relacionados con este ensayo se comunicará inmediatamente al representante autorizado y a las autoridades nacionales competentes de los Estados miembros donde se encuentren los usuarios y/o pacientes.

### Almacenamiento y estabilidad

- Almacene el kit de prueba a 2-30°C, la estabilidad es hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.
- El cartucho de prueba y el buffer de muestra deben utilizarse en la hora siguiente a la apertura del envase.

### Recogida y preparación de muestras

- La prueba sólo puede realizarse con **sangre humana total**.
- Recoger muestras de acuerdo con las prácticas médicas correctas.
- Utilice únicamente sangre capilar fresca, sangre total venosa lito-heparinizada, K2 o K3-EDTA.
- Se recomienda analizar la muestra en las 24 horas siguientes a su recogida. Las muestras pueden almacenarse hasta una semana a 2-8°C antes de ser analizadas. Si la prueba se retrasará más de una semana, las muestras se deben congelar en -70°C o debajo. Las muestras almacenadas congeladas en -70°C o debajo por 3 meses no demostraron ninguna diferencia del funcionamiento. Una vez que la muestra fue congelada debe utilizarse una sola vez para la prueba, ya que la congelación y descongelación repetidas pueden provocar el cambio de los valores de la prueba.

### Calibración

Este método se ha estandarizado con respecto al método de referencia IFCC para la medición de HbA1c en sangre humana 7.8 y puede transferirse a resultados trazables a DCCT/NGSP mediante cálculo. Cada lote de chip de identificación de la prueba HbA1c es trazable a IFCC.

El instrumento lee automáticamente los datos de calibración específicos del lote a partir de la información del código QR impresa en el cartucho de prueba, eliminando la necesidad de calibración por parte del usuario.

### Control de calidad

- Las pruebas de control de calidad forman parte de las buenas prácticas de ensayo para confirmar los resultados esperados y la validez del ensayo, y deben realizarse a intervalos regulares.
- Las pruebas de control deben realizarse inmediatamente después de abrir un nuevo lote de prueba para garantizar que no se altere el rendimiento de la prueba.
- También deben realizarse pruebas de control de calidad siempre que haya alguna duda sobre la validez de los resultados de las pruebas.
- Los materiales de control se proporcionan a petición con las pruebas. Para obtener más información sobre la obtención de los materiales de control.

### Visualización de los resultados

Al final de la determinación automática, instrumento para pruebas muestra el resultado en la pantalla en 5 segundos. El resultado de la medición se mostrará en % de hemoglobina A1c (DCCT/NGSP). La relación aproximada entre la HbA1c y el valor medio de glucosa en sangre durante los 4 meses anteriores ha sido analizada por varios estudios.9.10 Se ha establecido la siguiente correlación:

- Normalización DCCT/NGSP (% HbA1c)
- Glucosa media estimada (eAG) [mmol/L] = 1,59 x HbA1c (%) - 2,59 o Glucosa media estimada (eAG) [mg/dL] = 28,7 x HbA1c (%) - 46,7

### Configuración de la prueba

- Asegúrese de que el número de lote del cartucho coincide con el del buffer de muestra y con el chip de identificación.
- Si el cartucho sellado y el buffer de muestra se han almacenado en el frigorífico, colóquelos a temperatura ambiente (18-25 °C) al menos 30 minutos antes de la medición.
- Encienda el aparato para las pruebas.

### Procedimiento de ensayo

1. Inserte el chip de identificación en el instrumento para pruebas y lea la información del chip de identificación.
2. Usando una pipeta transferir **5 µL** de muestra (Sangre total humana) al **tubo de buffer de muestra** suministrado en el kit.
3. Cierre la tapa del tubo de mezcla de muestras y mezcle bien la muestra durante **5-10 segundos** dando golpecitos invirtiendo el tubo, después dejelo a temperatura ambiente (18-25°C) durante 2 minutos.
4. Pipete **100 µL** de **mezcla de muestra** y cárguela en el pocillo de muestra del cartucho.
5. Deje el cartucho cargado con la muestra
6. Introduzca el cartucho cargado con la muestra en el porta cartuchos del instrumento para pruebas. Asegúrese de que el cartucho está correctamente orientado antes de introducirlo completamente en el porta cartuchos.
7. Pulse el botón "**Prueba**" del aparato para realizar pruebas.
8. El instrumento para pruebas comenzará a escanear inmediatamente el cartucho cargado con la muestra.
9. Lea el resultado de la prueba en la pantalla del aparato para pruebas.
10. Imprima los resultados de las pruebas cuando pulse el botón "**Imprimir**" del instrumento para las pruebas.

# HbA1c

## Hemoglobina A1c (FIA)

### Limitaciones - interferencias

- Esta prueba se ha desarrollado para analizar únicamente muestras de sangre humana total.
- La prueba no está pensada para juzgar el control diario de la glucosa y no debe utilizarse como sustituto de los análisis caseros diarios de glucosa en orina o en sangre.
- Por principio, debe tenerse cuidado al interpretar cualquier resultado de HbA1c de pacientes con variantes de Hb. Las hemoglobinas anómalas podrían afectar a la vida media de los hematíes o a los índices de glicosilación in vivo. En estos casos, incluso los resultados analíticamente correctos no reflejan el mismo nivel de control glucémico que cabría esperar en pacientes con hemoglobina normal.
- Cualquier causa de supervivencia eritrocitaria acortada reducirá la exposición de los eritrocitos a la glucosa, con la consiguiente disminución de los valores de HbA1c en mmol/mol (IFCC) y en % (DCCT/NGSP), aunque el nivel de glucosa en sangre promediado en el tiempo pueda estar elevado. Las causas del acortamiento de la vida eritrocitaria pueden ser la anemia hemolítica u otras enfermedades hemolíticas, el rasgo falciforme homocigoto, el embarazo, la pérdida de sangre significativa o crónica reciente, etc. Debe tenerse precaución al interpretar los resultados de HbA1c de pacientes con estas afecciones.
- El ensayo no detecta la HbF glicosilada, ya que no contiene la cadena beta glicosilada que caracteriza a la HbA1c. Sin embargo, la HbF se mide en el ensayo de Hb total y, en consecuencia, las muestras que contienen cantidades elevadas de HbF (> 10 %) pueden dar lugar a valores de HbA1c en mmol/mol (IFCC) y valores de HbA1c en % (DCCT/NGSP) inferiores a los esperados. 12,13
- Criterio: Recuperación dentro de  $\pm 10$  % del valor inicial a una concentración de HbA1c de 5,8 % HbA1c.
- Ictericia: Sin interferencias significativas hasta una concentración de bilirubina conjugada / no conjugada de 1000  $\mu\text{mol/L}$  o 60 mg/dL.
- Lipemia (Intralipid): Ninguna interferencia significativa hasta una concentración de Intralipidos de 500 mg/dL. Existe una escasa correlación entre la concentración de triglicéridos y la turbidez.
- Glucemia: Sin interferencias significativas hasta un nivel de glucosa de 111 mmol/L (2000 mg/dL). No se requiere una muestra en ayunas. Factores reumatoideos: Ninguna interferencia significativa hasta un nivel de factor reumatoide de 750 UI/mL.
- Fármacos: No se encontraron interferencias a concentraciones terapéuticas utilizando paneles de fármacos comunes. 14,15.
- En concentraciones fisiológicas, no se encontraron reacciones cruzadas con HbA0, HbA1a, HbA1b, hemoglobina acetilada, hemoglobina carbamylada y HbA1c lábil.
- El ensayo es específico para la hemoglobina glicosilada en el extremo N-terminal de la cadena beta. Por consiguiente, el estado metabólico de los pacientes con las hemoglobinopatías más frecuentes (HbAS, HbAC, HbAE) puede determinarse mediante este ensayo.
- A efectos de diagnóstico, los resultados deben valorarse siempre en conjunción con la historia clínica del paciente, la exploración clínica y otros hallazgos.

### Rango de medición

2%-15% (definido por el límite inferior de detección y el máximo de la curva maestra). Los valores por debajo del límite inferior de detección se notifican como <2%. Los valores por encima del rango de medición se notifican como >15%.

### Límite inferior de detección 2%

El límite de detección representa el nivel más bajo de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor que se encuentra dos desviaciones estándar por encima del valor estándar más bajo. (calibrador maestro, estándar 1+2 SD, estudio de repetibilidad, n = 21)

### Valores previstos

- El valor de referencia NGSP(%): 4.5-6.5%
- El rango de trabajo NGSP(%): 2-15%

### PNGE: Programa Nacional de Normalización de la Glicohemoglobina

Cada laboratorio debe investigar la transferibilidad de los valores esperados a su propia población de pacientes y, si es necesario, determinar sus propios rangos de referencia.

### Datos específicos de rendimiento

A continuación, se ofrecen datos representativos del rendimiento. Resultados obtenidos en:

### Precisión

#### Entre pruebas

Determinado utilizando 10 réplicas del mismo lote para probar con un control de 4,0% de HbA1c. CV  $\leq 10\%$

#### Entre lotes

Determinado utilizando 3 réplicas de 3 lotes continuos aleatorios para probar con control de HbA1c 4,0% CV  $\leq 15\%$ .

### Linealidad

Se probó una concentración seriada de controles de HbA1c al 2%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% y 15%, el Coeficiente de Correlación es  $r \geq 0,9918$ .

### Comparación de métodos

Una comparación del ensayo HbA1c (y) con el ensayo Elecsys cobas HbA1c (x) utilizando 171 muestras clínicas arrojó las siguientes correlaciones:

Regresión lineal  
 $y = 0,986x - 0,0182$   
 $r = 0,9982$

### Referencias

- Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, et al. Hemoglobina glicosilada: metodologías y aplicaciones clínicas. Clin Chem 1986;32:B64-B70.
- Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, et al. Pruebas de glucemia en la diabetes. Diabetes Care 1995;18:896-909.
- Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. Diabetes Care 1994;17:938-939.
- Santiago JV. Lecciones del ensayo de control y complicaciones de la diabetes. Diabetes 1993;42:1549-1554.
- Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. La glicosilación de la hemoglobina: relevancia para la diabetes mellitus. Science 1978;200:21-27.
- Kobold U, Jeppsson JO, Dueffler T, et al. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. Clin Chem 1997;43:1944-1951.
- Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. Clin Chem Lab Med 2002;40:78-89.
- Declaración de Consenso sobre la Estandarización Mundial de la Medida de Hemoglobina A1c. Comité de Consenso de la Asociación Americana de Diabetes, la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes, la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio y la Federación Internacional de Diabetes. Diabetes Care 2007;30:2399-2400.
- Nathan DM, Kuenen J, Borg R, et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. Diabetes Care 2008;31:1473-1478.
- Miedema K. Influencia de las variantes de hemoglobina en la determinación de la hemoglobina glicosilada. Klin Lab 1993;39:1029-1032.
- Chang J, Hoke C, Ettinger B, et al. Evaluation and Interference Study of Hemoglobin A1c Measured by Turbidimetric Inhibition Immunoassay. Am J Clin Pathol 1998;109(3):274-278.
- Rohlfing C, Connolly S, England J, et al. Effect of elevated fetal hemoglobin on HbA1c measurements: four common assay methods compared to the IFCC reference method. Clin Chem 2006;52 Suppl 6: A108.
- Breuer J. Informe sobre el simposio "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.

### Símbolos



Producto Sanitario para diagnóstico in vitro



Límite de temperatura



Consulta las instrucciones de uso



Número de catálogo



Código de lote



Fecha de fabricación



Fecha de caducidad



Contiene suficientes para <n> pruebas



Fabricante



No reutilizar



No utilizar si el envase está dañado y consultar las instrucciones de uso



Conformidad Europea



Representante autorizado en la Comunidad Europea