

Utilização prevista

Para a determinação quantitativa de hemoglobina A1c (HbA1c) em sangue humano. A determinação da HbA1c é, geralmente, realizada para a avaliação do controlo glicémico na diabetes mellitus. Os valores de HbA1c fornecem uma indicação dos níveis de glicose durante as 4-8 semanas anteriores. Um valor de HbA1c elevado indica um mau controlo glicémico. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*. **Rx Only (utilização apenas mediante receita médica).**

Resumo e explicação do teste

Durante a vida circulatória dos glóbulos vermelhos, a hemoglobina A1c é formada de forma contínua pela adição de glicose no N-terminal da cadeia beta de hemoglobina. Este processo, que é não enzimático, reflete a exposição média da hemoglobina à glicose durante um período alargado. Num estudo clássico, Trivelli et al¹ demonstraram que a hemoglobina A1c em indivíduos diabéticos é 2-3 vezes mais elevada em comparação com os níveis constatados em indivíduos normais. Vários investigadores recomendaram que a hemoglobina A1c sirva de indicador de controlo metabólico de diabéticos, uma vez que os níveis de hemoglobina A1c indicam os valores normais para diabéticos em controlo metabólico.^{2,3,4}

Em termos operacionais, a hemoglobina A1c tem sido definida como as hemoglobinas de "fração rápida" (HbA_{1a}, A_{1b}, A_{1c}), que eluem, primeiramente, durante a cromatografia em coluna com resinas permutadoras de cátions. A hemoglobina não glicosilada, que consiste na maioria da hemoglobina, tem sido designada de HbA₀. O presente procedimento utiliza uma reação antigénio-anticorpo para determinar diretamente a concentração de HbA1c.

Princípio

Este método utiliza a interação antigénio-anticorpo para determinar diretamente a HbA1c no sangue total. A hemoglobina total e a HbA1c têm a mesma taxa de absorção não específica para partículas de látex. Quando é adicionado um anticorpo monoclonal de HbA1c anti-humano de rato (R2), é formado o complexo de anticorpo de HbA1c anti-humano de rato e látex-HbA1c. A aglutinação é formada quando um anticorpo policlonal IgG anti-rato de cabra interage com o anticorpo monoclonal. A quantidade de aglutinação é proporcional à quantidade de HbA1c absorvida na superfície das partículas de látex. A quantidade de aglutinação é medida como absorvância. O valor de HbA1c é obtido a partir de uma curva de calibração.

Reagentes

R1: Látex 0,13%, tampão, estabilizador.

R2: Anticorpo monoclonal de HbA1c anti-humano de rato 0,05 mg/mL, anticorpo policlonal IgG anti-rato de cabra 0,08 mg/dL, tampão, estabilizadores.

Reagente de hemólise: água e estabilizadores. (Incluído no kit de 40 mL, mas não no kit de 120 mL)

Armazenamento dos reagentes

Armazene todos os reagentes refrigerados a 2-8°C.

Preparação dos reagentes

Os reagentes R1, R2 e de hemólise são fornecidos como líquidos prontos a utilizar. Misture cuidadosamente antes de utilizar.

Deterioração dos reagentes

Alterações no aspeto físico dos reagentes ou valores dos materiais de controlo fora do intervalo aceitável do fabricante podem ser indicadores de instabilidade dos reagentes.

Procedimento (automatizado)

Consulte a instruções de aplicação específicas do instrumento quanto às configurações sugeridas.

Precauções

1. Este reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. Não se destina a utilização interna ou externa em humanos ou animais.

Colheita e preparação de amostras

Não é necessária preparação especial do paciente. Não são necessárias amostras em jejum. Não são necessários aditivos ou conservantes

especiais, à exceção de anticoagulantes. Proceda à colheita de sangue venoso em EDTA, através de uma técnica asséptica. Todas as amostras de origem humana devem ser consideradas como potencial perigo biológico. Por conseguinte, devem ser utilizadas precauções universais no manuseamento de amostras (luvas, vestuário de laboratório, evitar a produção de aerossóis, etc.). Para determinar a HbA1c, tem de ser preparada uma hemólise para cada amostra:

1. Distribua 1 mL de reagente de hemólise por tubos com as etiquetas: Controlo, Pacientes, etc.
2. Nota: são aceitáveis tubos de plástico ou vidro com dimensões adequadas.
3. Coloque 20 uL de sangue total bem misturado no tubo de reagente de lise etiquetado adequadamente. Misture.
4. Deixe assentar durante 5 minutos ou até ser evidente a lise completa. Os hemolisados podem ser armazenados por um período até 10 dias a 2-8 C.

NOTA: vários analisadores químicos clínicos podem realizar automaticamente a etapa de preparação de amostras, eliminando, assim, o processo manual de hemólise de amostras. Entre em contacto connosco para obter a ficha de instruções de aplicação específicas do instrumento (nome e modelo do instrumento).

Armazenamento e estabilidade

1. Todos os reagentes são estáveis até à data de validade indicada nas etiquetas. Não utilize os reagentes após a data de validade.
2. Os reagentes R1 e R2 são estáveis durante, pelo menos, um mês após abertura, armazenados a 2-8°C.
3. A hemoglobina A1c em sangue total colhido em EDTA é estável durante uma semana a 2-8°C.⁵

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes".

Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Pipetas para distribuir 20 uL e 1 mL, e Tubos de teste para conter 1,02 mL.
2. Conjunto de calibrador de hemoglobina A1c, conjunto de controlo e reagente de hemólise para o kit de 120 mL.

Procedimentos de ensaio

Wavelength:	660 (640-680) nm
Pathlength:	1 cm
Temperature:	37 °C
Sample / Reagent 1 / Reagent 2:	5uL / 180uL / 60 uL
Reaction:	Endpoint (increase)

Uma variação proporcional dos volumes de reação indicados no procedimento analítico não altera o resultado.

Interferências

1. A bilirrubina a 50 mg/dL, ácido ascórbico a 50 mg/dL, triglicéridos a 2000 mg/dL, Hb carbamílada a 7,5 mmol/L e Hb acetilada a 5,0 mmol/L não interferem neste ensaio.
2. Foi relatado que os resultados podem ser inconsistentes em pacientes com as seguintes condições: dependência de opiáceos, saturnismo, alcoolismo, ingestão de doses elevadas de aspirina.^{6,7,8,9}
3. Foi relatado que níveis elevados de HbF podem resultar em subvalorização de HA1c.¹⁰ Adicionalmente, foi relatado que os intermediários lábeis (base de Schiff) não são detetados e não interferem na determinação de HbA1c por imunoensaio.⁵
4. Foi determinado que as variantes HbA2, HbC e HbS da hemoglobina não interferem neste método.
5. Não foram avaliadas outras variantes muito raras de hemoglobina (por ex. HbE).

Conjunto de reagentes de Hemoglobina A1c Pointe

Limitações

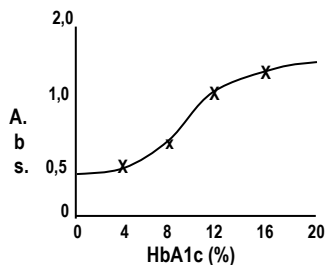
1. Este ensaio não deve ser utilizado para o diagnóstico de diabetes mellitus.
2. As amostras dos pacientes devem ser sempre submetidas a ensaio utilizando uma curva de calibração.
3. Foi relatado que os resultados podem ser inconsistentes em pacientes com as seguintes condições: dependência de opiáceos, saturnismo, alcoolismo, ingestão de doses elevadas de aspirina.^{6, 7, 8, 9}
4. Foi relatado que níveis elevados de HbF podem resultar em subvalorização de HA1c e que a uremia não interfere na determinação de HbA1c por imunoensaio.¹⁰ Foi relatado que os intermediários lábeis (base de Schiff) não são detetados e, como tal, não interferem na determinação de HbA1c por imunoensaio.⁵
5. Foi determinado que as variantes HbA2, HbC e HbS da hemoglobina não interferem neste método.
6. Não foram avaliadas outras variantes muito raras de hemoglobina (por ex. HbE).

Controlo da qualidade

A fiabilidade dos resultados do teste deve ser monitorizada sempre que as amostras do paciente forem submetidas a ensaio, utilizando um padrão e analisando os materiais de controlo da qualidade da mesma forma utilizada para os desconhecidos. Recomendamos a utilização de controlos de hemoglobina A1c disponíveis comercialmente com um intervalo de ensaio. Se os controlos não se situarem no intervalo de ensaio, os valores do paciente dessa série não devem ser relatados. A série deve ser repetida, garantindo que todas as instruções de mistura e de manuseamento são rigorosamente seguidas. A linearidade do ensaio deve ser verificada com um conjunto de verificação de linearidade comercial, ou diluições de uma amostra superior, pelo menos a cada seis meses.

Cálculos/Resultados

Os resultados de HbA1c para desconhecidos e controlos são determinados através da curva de calibração preparada. Pode ver abaixo a ilustração de uma curva de calibração exemplificativa:



Valores esperados¹¹

Valores recomendados: menos de 6% para um não diabético, menos de 7% para controlo glicémico de uma pessoa com diabetes.

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados. Quando é utilizada hemoglobina A1c para monitorizar pacientes diabéticos, os resultados devem ser interpretados individualmente. Ou seja, o paciente deve ser monitorizado quanto aos seus próprios valores. Há um intervalo de 3-4 semanas antes de a hemoglobina A1c refletir alterações no nível de glicose no sangue.

Desempenho

1. **Linearidade:** o intervalo do ensaio de hemoglobina A1c é 2,0%-16,0%.
2. **Comparação:** um estudo, que utilizou 40 amostras de origem humana entre este procedimento de hemoglobina A1c e um procedimento de HPLC automatizado (Tosoh), produziu um coeficiente de correlação de 0,988 e uma equação de regressão linear de $y=0,983x + 0,140$. ($Syx = 0,230$)
3. **Precisão:**
Na mesma série: a precisão na mesma série foi estabelecida através do ensaio de amostras de sangue, de acordo com o protocolo EP5 de NCCLS num Hitachi 717.

	LOW	MED	HIGH
N	20	20	20
Média	5,97	8,49	12,21
SD	0,138	0,072	0,152
CV	2,31%	0,85%	1,24%

Dia a dia: a precisão entre dias foi estabelecida através do ensaio de amostras de sangue, de acordo com o protocolo EP5 de NCCLS num Hitachi 717.

	LOW	MED	HIGH
N	20	20	20
Média	5,95	8,34	12,15
SD	0,190	0,093	0,179
CV	3,19%	1,12%	1,47%










4. **Sensibilidade:** a sensibilidade foi investigada através da leitura das alterações na absorvância a 660 nm para uma amostra de solução salina e uma amostra de sangue total a uma concentração conhecida. Foram realizadas dez réplicas de cada amostra. Os resultados desta investigação indicaram que, no analisador utilizado (Hitachi 717), o reagente de HbA1c exibiu pouco ou nenhum desvio na amostra zero. Nas condições de reação descritas, uma alteração na absorvância de 0,056 é aproximadamente equivalente a 1,0% de HbA1c.

Bibliografia

1. Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284,353 (1971).
2. Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
3. Gabbay, K.H., Hasty, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
4. Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 16 (Jan. 1978).
5. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p.794-795 (1999).
6. Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, p. 379 (1982).
7. Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32, pp. 358-360 (1986).
8. Fluckiger, R., et al, New Eng.J. Med. 304 pp. 823-827 (1981).
9. Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, pp. 466-469 (1983).
10. Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, pp. 93-97 (1989).
11. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).

Conjunto de reagentes de Hemoglobina A1c Pointe

Legenda dos símbolos

 Utilizar até (AAAA-MM-DD)	 Lote e código
 Número de catálogo	 Fabricante
 Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Limite de temperatura
 Consulte as instruções de utilização	
Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica	
 Marcação CE	 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 H7546-40
H7546-120

 Fabricado por
HORIBA Instruments
Incorporated:
Pointe Brand
5449 Research Drive
Canton, MI 48188

  2°C - 8°C



Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated: Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeu Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net



Garantia de desempenho certificada

A Pointe certifica que todos os nossos produtos são fabricados de acordo com parâmetros especificados. Quaisquer produtos que não cumpram as especificações até à data de validade indicada serão regularizados imediatamente sem quaisquer custos.

Rev 06/22 P803-H7546-01-PT