

GLYCOHEMOGLOBIN HbA₁ TEST SP

NOME

Hemoglobina Glicada

MÉTODO

Separação rápida por resina de troca iônica.

FINALIDADE

Reagentes para determinação da fração glicada da hemoglobina (Hb A₁) presente no sangue total humano com EDTA. Somente para uso diagnóstico IN VITRO.

FUNDAMENTO

A glicohemoglobina é formada irreversível e progressivamente nos eritrócitos durante o ciclo de vida de 120 dias das células normais. Desde que a concentração da glicohemoglobina nos eritrócitos reflete a média do nível sanguíneo da glicose nas últimas 4 a 6 semanas e é estável para a vida dos eritrócitos, a medição da glicohemoglobina fornece um teste valioso para a asserção do controle de um período longo de pacientes diabéticos.

O sangue em contato com o reagente de lise, contendo um solubilizante (detergente) de proteína e alta concentração de íons borato, sofre hemólise total, ocorrendo ainda a eliminação da fração lábil (bases de Schiff). A preparação hemolisada é então misturada por 5 minutos com uma resina de troca catiônica de ligação fraca. Durante este tempo, a hemoglobina HbA₀ acopla-se à resina enquanto que a hemoglobina glicada HbA₁ permanece no sobrenadante. Após o período de 5 minutos é realizada uma centrifugação para separar a resina do sobrenadante, o qual contém a HbA₁. A concentração de hemoglobina glicada é determinada pela medida de absorvância da fração hemoglobina glicada e da fração hemoglobina total em 415 nm ou Hg 405 nm e comparando-se a relação de absorvância entre as duas hemoglobinas com a obtida do padrão processado da mesma forma que a amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A formação da hemoglobina glicada ocorre de forma irreversível e progressiva no eritrócito e é proporcional aos níveis glicêmicos encontrados no sangue, sendo que valores anormais levam de 4 a 6 semanas para normalizarem-se. Por esta propriedade, a determinação da hemoglobina glicada para avaliação da glicemia nos diabéticos é de grande utilidade porque avalia o real quadro glicêmico das últimas 4 ou 6 semanas. Os níveis se encontram elevados na anemia ferropriva e diminuídos nas anemias hemolíticas.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO

Manter RGT e LYSE entre 2 e 25°C.

RGT – Resina de Troca Iônica

Já envasada nos tubos plásticos

Resina de troca catiônica ácida fraca	
Tampão imidazol (pH 7,5 ± 0,1)	30 mmol/L
Borato	150 mmol/L
Thimerosal	0,1 g/L

LYSE – Hemolisante (pH 7 ± 0,1)

Detergente	0,25%
Borato	1000 mmol/L
Azida sódica	0,065%

PREPARO DOS REAGENTES

RGT e **LYSE** são prontos para uso. O **LYSE** deve ser bem homogeneizado antes do uso.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa nos rótulos, se armazenados conforme indicações.

TRANSPORTE

Não existem condições especiais para o transporte do produto.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES

- 1- Usar roupas de proteção e luvas descartáveis de acordo com as Boas Práticas de Laboratório.
- 2- Todo material contaminado com amostras dos pacientes ou controles do kit devem ser inativados por autoclavagem (60 min. a 121°C) ou por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 5% por no mínimo 60 minutos;
- 3- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- 4- Como os resultados não são influenciados pela variação de temperatura, rodar o padrão em intervalos adequados, pelo menos uma vez por kit utilizado.
- 5- Diabéticos sem controle (metabolismo desequilibrado) podem ter níveis extremamente elevados da forma lábil de aldimina. Para total eliminação desta fração, aumentar para 15 minutos o tempo de incubação na etapa A.
- 6- Homogeneizar bem o **RGT** para assegurar a reprodutibilidade do teste.
- 7- Se não houver disponibilidade de homogeneizador hematológico, o **RGT** deve ser homogeneizado manualmente ou pelo uso de um homogeneizador tipo vortex. Agitar o **RGT** várias vezes por 10 - 15 segundos durante a etapa B do procedimento.
- 8- O diagnóstico final não deve se basear no resultado de um único teste e sim na correlação dos resultados dos testes com achados clínicos.
- 9- **LYSE** contém azida sódica. **RGT** contém timerosal. Não aspirar. Evitar contato com a pele e mucosas.
- 10- **LYSE** Provoca irritação cutânea e ocular. Pode afetar a fertilidade ou o feto.
- 11- Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- 12- Lavar cuidadosamente após manuseio.
- 13- Se entrar em contato com os olhos: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contato, retire-as, se tal lhe for

possível. Continuar a enxaguar. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

14- Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

15- Em caso de exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.

16- Armazenar em local fechado à chave.

17- Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com a legislação local/regional/nacional/internacional.

18- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRA BIOLÓGICA

Coleta da amostra: Deve-se obter a amostra através de punção venosa.

Anticoagulante: Utilizar EDTA como anticoagulante.

Estabilidade: 1 semana entre 2 e 8°C. Homogeneizar bem antes do uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

Pontelras;

Pipetas;

Tubos;

Espectrofotômetro.

MÉTODO DE ANÁLISE:

A. PREPARO DO HEMOLISADO

1. Pipetar em tubo de ensaio, à parte, 250 µL do **LYSE**.
2. Pipetar no mesmo tubo 50 µL de amostra bem homogeneizada.
3. Deixar em repouso por 5 minutos. (**Ver item 5 de "Precauções"**).

B. SEPARAÇÃO DA HbA₁

1. Adicionar 100 µL do hemolisado - (A2) ao tubo contendo a resina. Não descartar o hemolisado, porque ele será usado para a determinação da hemoglobina total (C).

2. Tampar o tubo.

3. Homogeneizar o tubo 15 segundos a cada minuto durante 5 minutos. Se possível colocar em um homogeneizador para hematologia. **Ver item 7 de "Precauções"**.

4. Destampar o tubo e centrifugar por 2 minutos a 2000 - 3000 rpm.

5. **Cuidadosamente**, transferir 1 mL do sobrenadante para a cubeta de leitura utilizando uma pipeta automática. **Se ocorrer a resuspensão da resina centrifugar novamente. A presença de resina na cubeta de leitura provocará resultados inadequados.**

6. Ler a absorvância contra água a 415 nm ou Hg 405 nm dentro de 10 minutos.

Esta leitura é a A1: absorvância da hemoglobina glicada.

NOTA:

Esta técnica permite obter um volume de sobrenadante de 1,5 - 1,7 mL. Para aparelhos que requeram volume maior, pode-se fazer diluição do sobrenadante de acordo com o volume de reação necessário para o aparelho utilizado: 1,0 mL do sobrenadante + 1,0 mL de H₂O. Homogeneizar e ler a absorvância contra a água em 415 nm. Multiplicar o valor da leitura por 2 para efetuar os cálculos.

C. OBTENÇÃO DA HEMOGLOBINA TOTAL

1. Pipetar em um tubo de ensaio, à parte, 20 µL do hemolisado (A2).

2. Adicionar 5 mL de água destilada e homogeneizar.

3. Ler a absorvância contra água a 415 nm ou Hg 405 nm dentro de 10 minutos.

Esta leitura é a AT: absorvância da hemoglobina total.

D. CÁLCULO

1. Cálculo do fator "F" a partir do padrão:

Processar o padrão procedimentos A, B e C e calcular o fator utilizando a seguinte fórmula:

$$F = (A_{TP} \times \% HbA_{1P}) / A_{1P}$$

$\% HbA_{1P}$ = Porcentagem da hemoglobina glicada do padrão

A_{1P} = Absorvância da hemoglobina glicada do padrão (procedimento B)

A_{TP} = Absorvância da hemoglobina total do padrão. (procedimento C)

2. Cálculo da concentração da amostra:

$$\%HbA_1 = (A_1/A_T) \times F$$

$\%HbA_1$ = Concentração da hemoglobina glicada da amostra

A_1 = Absorvância da hemoglobina glicada

A_T = Absorvância da hemoglobina total

F = Fator

Exemplo:

1- Cálculo do Fator:

$A_{TP} = 0,56$

$\%HbA_{1P} = 8,4$

$A_{1P} = 0,584$

$$F = (A_{TP} \times \%HbA_{1P}) / A_{1P}$$

$$F = (0,56 \times 8,4) / 0,584$$

$$F = 8,05$$

2- Cálculo da Concentração da Amostra:

$A_1 = 0,485$

$A_T = 0,507$

$$\%HbA_1 = (A_1/A_T) \times F$$

$$\%HbA_1 = (0,485 / 0,507) \times 8,05$$

$$\%HbA_1 = 7,7 \%$$

VALORES DE REFERÊNCIA:

4,5% a 7,0%: Pessoas com metabolismo saudável ou diabetes controlada.

7,0% a 8,5%: Tratamento inadequado ou diabetes subclínica com valor normal de glicose mas com teste de tolerância alterado.

> 8,5%: Diabéticos sem controle.

Rev.: 01/21

InVitro

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS:

O teste da Hemoglobina Glicada foi comparado com um método de referência HPLC e com um método de microcoluna comercialmente disponíveis. Para esta comparação amostras de sangue humano não tratado foram utilizadas. Uma boa concordância foi encontrada entre todos os métodos.

REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE

Concentração %HbA ₁	Repetibilidade		Reprodutibilidade	
	DP (% HbA ₁)	% CV	DP (% HbA ₁)	% CV
7,50	0,12	1,59	0,85	11,3
7,39	0,12	1,63	0,86	11,6
7,92	0,31	3,94	0,95	11,9
11,2	0,18	1,58	1,40	12,5
7,61	0,18	2,41	0,53	6,96
10,5	0,16	1,56	0,59	5,60

INTERFERENTES

Substâncias interferentes foram adicionadas a uma amostra conhecida. Nenhuma interferência foi detectada até as seguintes concentrações:

Ácido Ascórbico	até 20 mg/dL
Bilirrubina	alta interferência
Glicose	até 500 mg/dL
Intralípidos	alta interferência

LINEARIDADE

O teste mostra uma excelente linearidade entre 4,5 e 24% de HbA₁.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste
10657SP-100	RGT	100 x 2,5 mL	100
	LYSE	3 x 10,0 mL	

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefax (31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:

1. Gorka G., Labor-Medizin, 1, 30-31 (1985).
2. James T. M. et al., Clin. Biochem. 14, 25-27 (1981).
3. Nuttall, F. Q., Diabetes Care 21, 1475-1480 (1998).

Produzido e Distribuído por

In Vitro Diagnóstica Ltda

Rua Cromita, 278, Distrito Industrial - Itabira/MG. CEP: 35903-053

Telefone: 31-3067-6400 - Fax: 31-3067-6401

e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela - CRF 4463

Reg. M.S. 10303460345 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação