

# HbA1c%

## MÉTODO:

Imunoturbidimétrico

## FINALIDADE:

Imunoensaio para a determinação fotométrica direta de HbA1c em sangue total humano com EDTA. Somente para diagnóstico de uso *in vitro*.

## FUNDAMENTO:

Este método utiliza a ligação de antígeno e anticorpo para determinar diretamente a concentração da HbA1c no sangue total. Ambas as hemoglobinas Hb total e HbA1c têm a mesma taxa de absorção não-específica para as partículas de látex. Anticorpo monoclonal anti-humano HbA1c (rato) são ligados por anticorpo anti-rato IgG (cabra), reagindo especificamente com HbA1c, resultando na aglutinação das partículas de látex. O grau de aglutinação depende da quantidade de HbA1c ligada. O aumento da turbidez da mistura da reação é medido fotometricamente.

## SIGNIFICADO CLÍNICO:

A determinação de HbA1c é realizada para o controle da diabetes mellitus por um período longo. Os valores de HbA1c fornecem a indicação da média dos níveis de glicose de um período de 4-8 semanas anteriores. Valores altos de HbA1c indicam controle glicêmico inadequado. A terapia em longo prazo da doença requer controle dos níveis de glicose no sangue para evitar complicações agudas da cetose e hiperglicemia. Além disso, com o controle preventivo efetivo dos níveis de glicose no sangue complicações em longo prazo, tais como retinopatia, neuropatia e doença cardiovascular podem ser minimizadas.

## IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 e 8°C.

### **[RGT1]** - Reagente 1

Material látex suspenso <0,13%  
Azida Sódica <0,09%

### **[RGT2]** - Reagente 2

Anticorpo monoclonal anti-humano HbA1c (rato) 0,05 mg/mL  
Anticorpo policlonal anti-rato IgG (cabra) 0,08 mg/dL  
Tampão Tris 0,21 %  
Sulfato de Gentamicina 0,015 %  
Azida sódica 0,09 %

### **[LYS]** - Reagente hemolisante

Tween 20  
Azida sódica 0,05%

## PREPARO DOS REAGENTES:

Os [RGT1], [RGT2] e [LYS] estão prontos para uso.

## ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2-8°C.

[RGT1], [RGT2] e [LYS] e são estáveis por 4 semanas depois de abertos quando armazenados entre 2-8°C devidamente fechados.

## TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas aos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

## 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:

- Não ingerir ou aspirar os reagentes. Evitar contato com a pele e as mucosas.
- Manter no frasco original;
- Usar equipamentos de proteção necessários;
- Em caso de contato desta solução com a pele ou mucosa, lavar com bastante água e procurar um médico;
- Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos. Remover lentes de contatos, se presentes e for fácil a retirada. Continuar a lavar.
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Todo o material contendo amostras de pacientes ou controles deve ser inativado por procedimentos validados (autoclavação ou tratamento químico).
- 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.

## NOTAS:

1. Existe um risco potencial de valores reduzidos de HbA1c em combinação com soluções de lavagem designadas para um analisador em particular. Esta interferência é causada essencialmente pelos detergentes Tween ou Triton X, que podem estar incluídos em concentrações relativamente elevadas em soluções de lavagem de outros fabricantes. Verifique os seus soluções de lavagem.
2. Tem sido relatado que os resultados podem ser inconsistentes em pacientes que têm as seguintes condições: dependência de opiáceos, envenenamento por chumbo, alcoolismo, consumo de grandes doses de aspirina.
3. Tem sido relatado que os níveis elevados de HbF podem levar a uma subavaliação da HbA1c.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Banho ou incubador

## AMOSTRA BIOLÓGICA

Não é necessário preparo especial do paciente ou jejum. Coletar sangue venoso com EDTA usando técnicas de assepsia.

Estabilidade: 1 semana entre 2 e 8°C.

Para determinar HbA1c, o hemolisado deve ser preparado para cada amostra.

## Hemólise:

Pipetar nos tubos	
[LYS]	1000 µL
Amostra/[CAL]/[Control]	20 µL
Homogeneizar, aguardar por 5 minutos ou até que a hemólise fique evidente. Utilizar o hemolisado para o teste. Estabilidade: 10 dias entre 2 e 8°C.	

## PROCEDIMENTOS DO TESTE:

- Comprimento de Onda: 600 - 660 nm
- Caminho Ótico: 1 cm
- Temperatura: 37°C
- Medida: contra o reagente Branco (RB). Apenas um branco por série é necessário.

**Calibração:** Para a calibração, usar o kit Conjunto de Calibradores HbA1c - Cat. 10776.

## Esquema de Pipetagem:

Homogeneizar suavemente o [RGT1] e [RGT2] antes de usar.		
Pipetar nas cubetas	Reagente Branco (RB)	Amostra / [CAL] / [Control]
[RGT1]	750 µL	750 µL
Hemolisado (Amostra/[CAL]/[Control])	-----	20 µL
Homogeneizar e incubar por 5 minutos, a 37°C.		
[RGT2]	250 µL	250 µL
Homogeneizar, incubar por 5 minutos à 37°C. Ler a absorbância da amostra (A <sub>amostra</sub> ), Controle (A <sub>control</sub> ) e do [CAL] (A <sub>cal</sub> ) contra o reagente branco (A <sub>RB</sub> ) em 30 min. Usar exatamente o mesmo tempo de incubação para o [CAL] e a amostra.		

Os volumes poderão ser reduzidos desde que a proporção de [RGT1] : Amostra : [RGT2] se mantenha a mesma.

## CÁLCULO:

Calcular a diferença de absorbância de cada calibrador ( $\Delta A_{cal} = A_{cal} - A_{RB}$ ) e plotar os valores (eixo y) contra as respectivas concentrações (eixo x). A concentração de HbA1c da amostra e controle é calculada a partir da curva de calibração multipontos. Os valores do Conjunto de Calibradores HbA1c liquidirect são rastreáveis ao Sistema IFCC HbA1c.

Fórmula para conversão para valores NGSP:

$$NGSP \text{ HbA1c } [\%] = \text{HbA1c } [\text{mmol/mol Hb}] * 0.0915 + 2.15$$

## VALORES DE REFERÊNCIA:

< 42 mmol/mol Hb ou < 6% HbA1c para não-diabéticos.  
< 53 mmol/mol Hb ou < 7% HbA1c para controle glicêmico de diabéticos.  
Estes valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência. Ao se usar HbA1c para monitoramento de diabéticos, os resultados devem ser interpretados individualmente, isto é, o paciente deve ser monitorado contra ele mesmo.

## AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores será fornecida quando solicitada.

## CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo controle contendo valores determinados para HbA1c pode ser empregado. Recomendamos a utilização do sangue controle Conjunto de Controles - HbA1c Cat. 10775.

## LINEARIDADE:

A faixa de medição é definida pela faixa de concentração dos calibradores e deve abranger 1 - 145 mmol/mol Hb ou 2,2 - 15% de HbA1c.

## SENSIBILIDADE ANALÍTICA:

Aproximadamente < 1 mmol/mol Hb ou 2,2% de HbA1c.

## INTERFERÊNCIAS:

• Bilirrubina < 50 mg/dL, ácido ascórbico < 50 mg/dL, triglicérides < 2000 mg/dL, Hb carbamiliatada < 10 mmol/L, Hb acetilada < 10 mmol/L.

## IMPRECISÃO:

A repetibilidade do kit foi calculada a partir de 3 soluções controle (alto, médio e baixo), testadas 20 vezes consecutivas. A média, desvio padrão e coeficiente de variação foram calculados. A reprodutibilidade foi calculada a partir de 3 soluções controle (alto, médio e baixo), testadas por um período de 20 dias. A média, o desvio padrão e o coeficiente de variação foram calculados.

Controle s	Repetibilidade			Reprodutibilidade		
	Média HbA1c %	DP HbA1c %	CV (%)	Média HbA1c %	DP HbA1c %	CV (%)
Baixo	4,76	0,060	1,26	4,72	0,062	1,30
Médio	7,29	0,075	1,04	7,36	0,083	1,12
Alto	10,9	0,160	1,46	11,1	0,167	1,51

REV. 06/24

InVitro

#### COMPARAÇÃO DE MÉTODOS:

O kit de HbA1c Liquidirect foi comparado com outros kits disponíveis no mercado, sendo um método de HPLC e outro imunoturbidimétrico. Para comparação foram empregadas amostras de sangue humano.

	HPLC x HbA1c Liquidirect	Imunoturbidimetria x HbA1c liquidirect
n=	40	45
r=	0,993	0,995
Y=	0,950X + 0,055	1,05X - 0,36
Xmédia=	7,33%	8,53%
Ymédia=	7,02%	8,60%

#### APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat.	Reagente	Volume	Nº Teste
10770-40	RGT1	1 x 30 mL	40
	RGT2	1 x 10 mL	
	LYS	2 x 100 mL	

#### DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: **31 3067-6400** e-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

No DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

#### BIBLIOGRAFIA:

1. Thomas L, HbA1c, Labor & Diagnose, 8 ed. (2012), 236-242
2. Nathan, D.M. et al., Effect of Aspirin, Clin. Chem. 29, pp. 466-469 (1983).
3. Engbaek, F. et al., Analytical characteristics for patients with/without uremia, Clin. Chem. 35, pp. 93-97 (1989).
4. Little R.R. et al., HbA1c NGSP standardization, Clin. Chem. 47, 1985-1992 (2001).
5. Mongia S.K. et al, Effects of Hemoglobin C and S Traits, AmJClinPathol 2008; 130:136-140.
6. Little R.R. et.al., A Reviw of Variant Hemoglobins Interfering with HbA1c, J Diabetes Sci Technol 2009 ; 3 (3) ; 446-451
7. Little R.R. et al., Effect of Hb E and HbD, ClinChem 54 :8, 1277-1282 (2008)
8. Ceriello A. et al., Depressed ATIII biological activity in opiate addicts, Diabetologia 22, 379 (1982).

**Fabricante:** In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053.

**Regularizado por:** In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31 3067-6400 e-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

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

ANVISA: 10303460349 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