

ESPAÑOL

SOLO PARA USO PROFESIONAL

USO PREVISTO

El análisis HbA1c es un análisis inmunoturbidimétrico para la determinación cuantitativa del porcentaje de hemoglobina A1c (HbA1c) en sangre humana completa en analizadores químicos clínicos. Las mediciones del porcentaje de HbA1c se utilizan para el seguimiento del control glucémico a largo plazo en pacientes diabéticos.


RESUMEN

HbA1c está formada por la reacción de la glucosa con el grupo amino N-terminal de la cadena beta de la hemoglobina. El grupo de investigación para la Prueba de Control y Complicaciones de la Diabetes (DCCT) anteriormente registró la relación entre el porcentaje de HbA1c y los niveles medios de glucosa en sangre durante los 2-3 meses anteriores¹. El estudio del DCCT también demostró que el control a largo plazo de la diabetes puede evitar complicaciones como enfermedades cardiovasculares, retinopatías, nefropatías y neuropatías. La medida del porcentaje de HbA1c es el método de preferencia para la terapia de seguimiento de los pacientes diabéticos^{2,3}.

PRINCIPIO

El análisis de HbA1c de Axis-Shield emplea la interacción entre el antígeno y el anticuerpo para determinar directamente la concentración de HbA1c (%) en sangre. Las muestras de sangre completa se tratan con diluyente de lisis para lisar los glóbulos rojos. A continuación, la muestra lisada se incuba con micropartículas de látex (React 1). Las micropartículas capturan la hemoglobina y la HbA1c. Cuando se añade el anticuerpo (monoclonal murino) anti-HbA1c (React 2), se forma el complejo de látex-HbA1c-anticuerpo. La cantidad de aglutinación se mide turbidimétricamente y es proporcional a la cantidad de HbA1c absorbida en la superficie de las micropartículas.


COMPONENTES DEL KIT


REAG 1	1 x 40,8 ml	Micropartículas de látex 0,13%, amortiguador, estabilizadores. LISTO PARA USAR	
REAG 2	1 x 17,1 ml	Anticuerpo (monoclonal) murino contra HbA1c humana 0,04 mg/ml, anticuerpo (policlonal) antimurino contra IgG 0,06 mg/ml, amortiguador, estabilizadores (Proclin 300) LISTO PARA USAR NOTA: ADVERTENCIA	
LYSIS DILUENT	4 x 60,0 ml	Amortiguador, estabilizadores (azida sódica, < 0,01%). LISTO PARA USAR	

EQUIPO Y MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS EN EL KIT

- Equipo general de laboratorio
- Agua destilada o tratada por osmosis inversa
- Kit de calibradores de HbA1c de Axis-Shield, código de producto FHHBA300
- Kit de controles de HbA1c de Axis-Shield, código de producto FHHBA200

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1.  Solo para uso en diagnóstico in vitro.
2. La eliminación de todo el material de desecho debe realizarse conforme a las normas locales.
3. El diluyente de lisis contiene azida sódica que puede reaccionar con el plomo y el cobre de las cañerías y formar azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar los residuos, use abundante agua para evitar la formación de azidas.
4. Las hojas de datos de seguridad de los materiales están disponibles mediante petición a Axis-Shield.

 REAG 2 ADVERTENCIA	ADVERTENCIA	H315 – Provoca irritación cutánea. H317 – Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H319 – Provoca irritación ocular grave.	
	PREVENCIÓN	P264 – Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación. P280 – Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.	
	RESPUESTA	P305+351+338 – EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P332+313 – En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico. P362 – Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.	

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Estabilidad del kit (una vez abierto)

- Diluyente de lisis: Estable durante 60 días a 2 - 8 °C tras la apertura inicial. El producto no debe conservarse a temperatura ambiente durante más de 30 horas mientras esté en uso.
- React 1 y React 2: Estables cuando se conservan en el interior de un analizador refrigerado durante un máximo de 28 días, si se evita la contaminación. Si los reactivos se sacan del analizador, deben conservarse de nuevo a 2 - 8 °C. Pasados 28 días, los reactivos deben desecharse.

Estabilidad del kit sin abrir

Todos los componentes se mantienen estables hasta su caducidad, tal como indican las etiquetas correspondientes a 2 - 8 °C. Los reactivos no deben congelarse.

Notas sobre la manipulación y el procedimiento

- Conserve los componentes del kit a 2 - 8 °C.
- Los reactivos se suministran listos para usar.
- No utilice pasada la fecha de caducidad.
- **NO CONGELE LOS REACTIVOS.**
- Los reactivos deben conservarse a una temperatura de 2 - 8 °C tras su uso si no se conservan en el interior del instrumento.
- No mezcle reactivos entre números de lote diferentes.
- Utilice una punta de pipeta desechable nueva para cada manipulación de reactivos o muestras para evitar la contaminación de los reactivos.
- Los reactivos no deben contener partículas visibles y deben desecharse si se ponen turbios.

Indicios de deterioro

La turbidez o precipitación de cualquier componente del kit indica deterioro, por lo que se deberá desechar dicho componente. Los valores fuera del intervalo aceptable recomendado para los controles de HbA1c de Axis-Shield también pueden servir de indicación de la inestabilidad de los reactivos y los resultados asociados no serán válidos. Las muestras deberán someterse de nuevo a prueba.

MANIPULACIÓN, RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

Recogida y manipulación

- Para la recogida y preparación de muestras, utilice únicamente los recipientes de recogida o tubos adecuados.
- Solo se han analizado y encontrado adecuadas para su uso las muestras enumeradas a continuación:
 - Dipotasio EDTA (K2-EDTA)
 - Heparina de litio (Li-Heparina)
- No se ha verificado el uso de otros tubos para recogida de muestras.
- No utilice muestras en las siguientes condiciones: inactivadas por calor, colectivas o afectadas por una contaminación microbiana patente.
- Tenga precaución cuando manipule las muestras de los pacientes para prevenir la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipeta desechables. Elimine las burbujas con una varilla aplicadora antes del análisis. Utilice una varilla aplicadora nueva para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Preparación para el análisis

- Cuando procese las muestras, siga las instrucciones proporcionadas por el fabricante de los tubos de recogida.
- Cualquier muestra humana debe considerarse como potencialmente infecciosa. Se recomienda que estos materiales se manipulen conforme a las normas locales/nacionales relativas a los procedimientos de seguridad en el laboratorio.
- Muestras recientes/no congeladas:
 - No centrifugue las muestras recientes/no congeladas.
 - Las muestras deben mezclarse a fondo antes de usarlas.
- Muestras congeladas:
 - Deje que las muestras se descongelen durante un mínimo de 30 minutos.
 - Mezcle a fondo las mezclas descongeladas invirtiéndolas 4 veces.
 - Inspeccione visualmente las muestras. Si se observan capas o estratificación, continúe mezclando hasta que presenten un aspecto homogéneo.
 - Para garantizar la homogeneidad de resultados, las muestras congeladas y descongeladas deben transferirse a un tubo centrifugación y centrifugarlas a ≥ 10.000 FCR (Fuerza Centrifuga Relativa) durante 5 minutos antes del análisis.

Preparación manual del hemolizado

Para determinar el nivel de HbA1c, debe prepararse un hemolizado para cada muestra:

- Vierta 1 ml de diluyente de lisis en los tubos debidamente etiquetados.
Nota: Son aceptables los tubos de plástico o cristal del tamaño adecuado.
- Coloque 10 μ L de muestra de sangre completa mezclada en el tubo de reactivo de lisis debidamente etiquetado.
- Mezcle a fondo agitando suavemente durante 30 segundos.
- Deje las muestras de pie durante 2 minutos hasta que la lisis completa sea evidente.
- Inmediatamente después de su uso, cierre la botella de diluyente de lisis.

Conservación y estabilidad de las muestras

- Las muestras de sangre completa son estables cuando se conservan hasta un máximo de:
 - 6 horas a temperatura ambiente
 - 5 días a 2 - 8 °C o 14 días a -20 °C
 - Evite más de un ciclo de congelado/descongelado.
- Los lisados (hemolizados) son estables cuando se conservan hasta un máximo de:
 - 6 horas a temperatura ambiente
 - 5 días a 2 - 8 °C
 - 3 semanas a -20 °C
 - Evite más de un ciclo de congelado/descongelado.
 - Cuando se conserven en el interior del instrumento, el análisis no debe demorarse más de 2 horas.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

- Programe el instrumento mediante el protocolo adecuado específico del instrumento. Consulte el apartado de procedimiento analítico.
- Cargue los reactivos y las muestras conforme a los requisitos del instrumento.

NORMALIZACIÓN

El análisis de HbA1c de Axis-Shield es trazable mediante las normas de referencia de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC).

CALIBRACIÓN

Para la calibración del análisis, emplee los materiales del calibrador de Axis-Shield tal como se enumera en el apartado de «materiales necesarios». Los valores del calibrador son específicos de cada lote según se indica en las etiquetas.

Frecuencia de calibración:

La calibración es estable durante un máximo de 14 días.

Una nueva calibración será asimismo necesaria tras un cambio del lote de reactivo, si un control indica medidas fuera de intervalo o según lo exijan los procedimientos de control de calidad.

CONTROL DE CALIDAD

Para el control de calidad, emplee los materiales de control de Axis-Shield tal como se enumera en el apartado de «materiales necesarios». El mantenimiento y la calibración del instrumento deben realizarse conforme al manual de instrucciones del operador del analizador en cuestión.

Los usuarios deben garantizar que comprenden las instrucciones para la realización del análisis, especialmente los apartados de Advertencias y Precauciones, Manipulación de Muestras y Limitaciones de Procedimiento. Se recomienda que los controles y calibradores de HbA1c de Axis-Shield se realicen por duplicado cada día de uso.

Los límites de control debe establecerlos cada laboratorio conforme a los procedimientos de control de calidad de laboratorios y/o cualquier otra norma local o gubernamental.

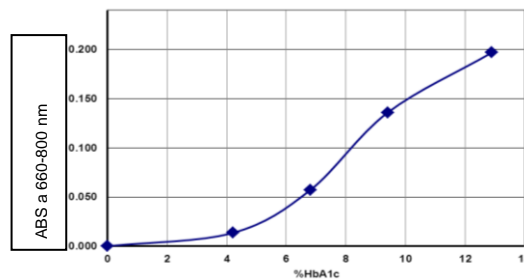
RESULTADOS

Unidad de medida

La unidad de resultados predeterminada para el análisis es %HbA1c.

Para unidades alternativas, pueden utilizarse cálculos manuales conforme a las siguientes ecuaciones:

- De %HbA1c de NGSP a mmol/mol de IFCC: $[\%HbA1c \times 10,93] - 23,50$
 - De mmol/mol de IFCC a %HbA1c de NGSP: $[\text{mmol/ml} \times 0,09148] + 2,152$
- Los resultados de HbA1c se calculan mediante un método de reducción de datos por interpolación por splines para generar una curva de calibración. A continuación se muestra una curva de ejemplo:



INTERVALO DE MEDIDA

El intervalo de medida analítico del análisis es el intervalo de la sensibilidad funcional del análisis a la concentración (%HbA1c) del calibrador más alto. El intervalo del análisis de HbA1c de Axis-Shield es de 4,0% a 13,0% (*) HbA1c.

(*) Los valores varían dependiendo de los valores objetivo del lote del calibrador en cuestión y esto debe tenerse en cuenta durante los ajustes instrumentales de los límites del intervalo analítico. El intervalo mencionado está basado en el valor típico más alto del calibrador.

Las muestras por encima del intervalo de medida **NO DEBEN DILUIRSE**. Dichas muestras deben analizarse mediante métodos alternativos.

VALORES PREVISTOS

Para el seguimiento de los pacientes diabéticos, se recomienda que los objetivos glucémicos se individualicen conforme a las recomendaciones actuales de las sociedades profesionales^{4*}. Las recomendaciones de la Asociación Estadounidense de Diabetes (ADA) se resumen en la siguiente tabla:

Valor de HbA1c	Objetivo glicémico
< 8% HbA1c (64 mmol/mol)	Menos estricto
< 7% HbA1c (53 mmol/mol)	General (adultos, excepto embarazadas)
< 6,5% HbA1c (48 mmol/mol)	Más estricto

Conforme recomienda la ADA, los pacientes dentro del intervalo de 5,7 - 6,4% HbA1c (39 - 46 mmol/mol) se encontrarían en la categoría de mayor riesgo de diabetes⁴.

LIMITACIONES DE PROCEDIMIENTO

- Las hemoglobinopatías pueden interferir con el análisis de hemoglobina glucosilada. En este análisis se han analizado las variantes comunes de hemoglobina. Consulte el apartado de Especificidad.
- Es posible que otras sustancias y/o factores no analizados (consulte el apartado de Interferencias) puedan interferir con el análisis.
- Este análisis no está pensado para:
 - El diagnóstico de la diabetes.
 - No debe emplearse para sustituir los análisis diarios a domicilio de orina y de los niveles de glucosa en sangre.
 - Analizar muestras de pacientes con niveles totales de hemoglobina < 8 g/dl, pues se obtendrán resultados con un sesgo negativo.
 - Analizar muestras de pacientes con cuadros clínicos que provoquen un tiempo reducido de supervivencia de los glóbulos rojos como anemia hemolítica u otras enfermedades hemolíticas, importantes hemorragias crónicas o agudas o embarazo.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO:

Los datos representativos en este apartado han sido generados por el análisis con el analizador ADVIA 2400; los resultados en cada laboratorio pueden variar.

El rendimiento de otras aplicaciones instrumentales no ha sido verificado, por lo que el usuario debe verificarlo.

SENSIBILIDAD FUNCIONAL

Se ha realizado un estudio para evaluar el rendimiento del análisis a niveles bajos de HbA1c. Se han analizado tres muestras de sangre completa de bajo nivel (n = 20) en 3 ocasiones mediante 3 lotes de reactivos de HbA1c de Axis-Shield. Las concentraciones de las muestras oscilaban entre 2,9 y 4,6% HbA1c. La desviación típica de todas las muestras era < 0,24% HbA1c. La sensibilidad funcional del análisis de HbA1c de Axis-Shield es de 4,0% HbA1c.

PRECISIÓN DEL ANÁLISIS

La imprecisión total del análisis se llevó a cabo empleando un estudio externo mediante controles y muestras de sangre humana completa. Todas las muestras se analizaron por duplicado (n = 2) 2 veces distintas al día durante 20 días mediante 3 lotes de reactivos de HbA1c de Axis-Shield. Los datos de rendimiento mínimo observado para las muestras empleando uno de los lotes de reactivos se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	n	Media (%)	Imprecisión total	
			DS (%HbA1c) (95% CI)	CV% (95% CI)
Control inferior	80	6,17	0,218 (0,177 - 0,283)	3,5 (2,9% - 4,6%)
Control superior	80	9,97	0,587 (0,484 - 0,74)	5,9 (4,9% - 7,5%)
Sangre humana n.º 1	80	6,32	0,254 (0,207 - 0,329)	4,0 (3,3% - 5,2%)
Sangre humana n.º 2	80	7,60	0,317 (0,273 - 0,378)	4,2 (3,6% - 5,0%)
Sangre humana n.º 3	80	8,57	0,366 (0,313 - 0,441)	4,3 (3,6% - 5,1%)

LINEALIDAD

Un estudio de linealidad se llevó a cabo con diluciones en serie de una muestra con alto %HbA1c con una muestra con bajo %HbA1c. El análisis se realizó mediante 3 lotes de reactivos HbA1c de Axis-Shield.

El análisis de HbA1c de Axis-Shield demostró linealidad desde 5,5 hasta 11,0 %HbA1c.

COMPARACIÓN DE MÉTODOS

Un estudio de correlación se llevó a cabo mediante muestras de sangre humana completa en todo el intervalo analítico. Las muestras se analizaron mediante 3 lotes de HbA1c de Axis-Shield y dos análisis HbA1c disponibles comercialmente (un inmunoanálisis y un método de electroforesis capilar). Las muestras se evaluaron mediante el método de regresión Passing-Bablok y la correlación se evaluó mediante el método de regresión (r) de Pearson. Se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de métodos con inmunoanálisis

Lote	Intervalo de muestras (%HbA1c)	n	Coefficiente de correlación (r)	Pendiente (95% CI)	Ordenada en el origen (95% CI)
1	4,2% - 12,6%	154	0,968	0,99 (0,96 - 1,02)	0,76 (0,58 - 0,95)
2	4,2% - 12,6%	154	0,968	0,94 (0,91 - 0,99)	1,00 (0,72 - 1,27)
3	4,2% - 12,6%	154	0,976	0,98 (0,95 - 1,02)	0,77 (0,52 - 0,99)

- Comparación con el método de electroforesis capilar

Lote	Intervalo de muestras (%HbA1c)	n	Coefficiente de correlación (r)	Pendiente (95% CI)	Ordenada en el origen (95% CI)
1	4,4% - 13,0%	157	0,973	0,95 (0,92 - 0,98)	0,45 (0,25 - 0,66)
2	4,4% - 13,0%	158	0,964	0,92 (0,88 - 0,96)	0,59 (0,28 - 0,91)
3	4,4% - 13,0%	158	0,976	0,94 (0,90 - 0,98)	0,54 (0,27 - 0,80)

INTERFERENCIAS

Los compuestos enumerados a continuación se añadieron a dos muestras de sangre humana completa con distintos niveles de %HbA1c (6 - 7% y 8 - 9% HbA1c) para evaluar la posible interferencia en el análisis en comparación con las muestras de referencia.

Ninguna de las sustancias en los niveles indicados mostró interferencia en el análisis de HbA1c de Axis-Shield definida por una desviación < ±10% en la concentración:

Posible interferencia	Máximo nivel analítico sin interferencias
Bilirrubina (conjugada y no conjugada)	38 mg/dl
Triglicéridos	1000 mg/dl
Factor reumatoide	600 U/ml
Proteínas totales	14 g/dl
Ácido ascórbico	50 mg/dl

Hay que extremar las precauciones cuando se analicen muestras de pacientes que hayan recibido preparados de anticuerpos monoclonales murinos para diagnóstico o terapia, pues pueden contener anticuerpos antimurinos humanos (HAMA). Las muestras con HAMA pueden arrojar valores inesperados cuando se analicen con este análisis, al igual que con cualquier análisis que emplee anticuerpos murinos⁵.

ESPECIFICIDAD

Derivados de la hemoglobina (Hb)

Las fracciones lábiles de Hb, la Hb acetilada y la Hb carbamilada no interfieren con este análisis.

Dos muestras de sangre humana completa con concentraciones de %HbA1c de 6 - 7% y 8 - 9% HbA1c se analizaron en presencia de concentraciones analíticas recomendadas o fisiológicas de cianato sódico, acetilsalicilato, glucosa y urea, y no se registró ningún sesgo definido por una desviación máxima en la concentración de < ±10% en comparación con las muestras de referencia.

Variantes de hemoglobina

Las siguientes variantes no interfieren con el análisis: HbS, HbC, HbD, HbA2, HbE y HbF. No se han analizado otras variantes con este análisis.

En principio, hay que extremar las precauciones cuando se interprete cualquier resultado de HbA1c de pacientes con niveles elevados de variantes de Hb.






BIBLIOGRAFÍA

1. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1993;329(14):977-86
2. Lester E. The clinical value of glycated haemoglobin and glycated plasma proteins. *Ann Clin Biochem* 1989;26: 213-9.
3. Goldstein DE, Little RR, Weidmeyer H-M, et al. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 1986; 32(10):B64-B70.
4. American Diabetes Association. Position Statement: Standards of Medical Care in Diabetes - 2012. In: *Diabetes Care* 2012;35 (Suppl 1):S11-S63.
5. Primus FJ, Kelley EA, Hansen HJ, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem* 1988;34(2):261-264.

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO TÍPICO

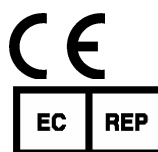
Volumen de sangre completa lisada:	4 µL
Volumen de reactivo 1:	150 µL
Tiempo de incubación:	5 minutos
Volumen de reactivo 2:	60 µL
Tiempo de incubación:	5 minutos
1 ^{er} tiempo de lectura:	20 segundos (15 - 25 segundos)
2 ^o tiempo de lectura:	300 segundos (270 - 330 segundos)
Longitudes de onda:	660 nm (640 - 680 nm)
Temperatura:	+ 37°C
Tipo de reacción:	Criterio de valoración
Tipo de cálculo:	Interpolación por splines
Modelo de calibración:	Multipunto

Consulte el manual de funcionamiento específico del instrumento para las instrucciones de programación del instrumento.

REF	Código del producto
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
LOT	Número de lote
Σ	Número de pruebas
	Consultar instrucciones de uso
	Fabricante
GTIN	Número Global de Artículo Comercial
	Fecha de caducidad
	Conservar entre 2 y 8 °C
	PRECAUCIÓN
REAG 1	Reactivo 1
REAG 2	Reactivo 2
LYSIS DILUENT	Diluyente de lisis



Axis-Shield Diagnostics Ltd.,
The Technology Park,
Dundee, DD2 1XA
United Kingdom
Tel.: +44 (0) 1382 422000
Fax: +44 (0) 1382 422088



EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)
Schiffgraben 41,
30175 Hannover,
Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630
Fax: + (49) 511 6262 8633

RPBL1087/R3
Ver. 2019/09