

GLUCOHEMOGLOBINA (HbA1)

MÉTODO CON RESINA DE INTERCAMBIO IÓNICO

Para la determinación "in vitro" de Glucohemoglobina en sangre

NUEVO PROCEDIMIENTO



PRINCIPIO

A un determinado valor de pH, la fracción de hemoglobina HbA0 es fijada en la resina de intercambio iónico, mientras que la fracción HbA1 (hemoglobinas glucosadas) adopta una carga neta tal, que permanece en el sobrenadante. La separación de ambas fases (resina y sobrenadante), por centrifugación, permite una evaluación inmediata de la proporción relativa de la fracción HbA1 con respecto a la hemoglobina total. (Técnica de "batch").

UTILIDAD DIAGNÓSTICA

La determinación de la Glucohemoglobina proporciona información acerca del control, a largo plazo, de pacientes diabéticos. La concentración de esta proteína eritrocitaria viene condicionada por la glucemia media, durante un período de semanas, por lo que constituye una prueba no influenciada por las fluctuaciones puntuales del nivel de glucosa en suero.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

REACTIVOS

Kit para 20 det. (Ref. 99 83 90). Contiene:

- A. 1 x 60 ml Resina tamponada. Ref. 99 00 54
- B. 1 x 10 ml Reactivo lisante. Ref. 99 07 90
- C. 1 x 1 ml Standard. Ref. 99 03 01

Kit para 100 det. (Ref. 99 50 84). Contiene:

- A. 3 x 100 ml Resina tamponada. Ref. 99 80 00
- B. 1 x 50 ml Reactivo lisante. Ref. 99 76 26
- C. 1 x 1 ml Standard. Ref. 99 03 01

Adicionalmente:

Juego de controles (Ref. 99 66 36). Contiene:

- 1 x 1 ml Control nivel bajo. Ref. 99 41 06
- 1 x 1 ml Control nivel alto. Ref. 99 88 07

PREPARACION DEL REACTIVO DE TRABAJO

Los reactivos A y B están listos para su uso. Para el Standard y el Control, rehidratar el vial con 1 ml de agua desionizada. Dejar media hora a T° ambiente (≤ 25°C) con alguna suave agitación ocasional, hasta total hidratación.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

- A. Resina tamponada: Resina de intercambio iónico tamponada 0,8%; pH 6,85
 - B. Reactivo lisante: Cianuro potásico 8 mM y tensoactivos.
 - C. Standard: Liofilizado de eritrocitos. La concentración está indicada en la etiqueta.
- Juego de controles: Liofilizado de eritrocitos. La concentración está indicada en la etiqueta.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

La resina y el reactivo lisante almacenados a T° ambiente (≤ 25°C) son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El estándar y los controles deberán conservarse a 2-8° C, protegidos de la luz. Una vez rehidratados son estables 2 semanas a 2 - 8° C o bien 8 semanas si se conservan congelados a -20° C en partes alícuotas.

Indicaciones de alteración de los reactivos:

- Blanco del reactivo A < 0,065
- Presencia de partículas o turbidez en el reactivo B, standard y control.

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

Material común de laboratorio.
Centrífuga.
Espectrofotómetro o fotómetro termostatzado a 37°C. Cubeta de 1 cm de paso de luz.

MUESTRA

Sangre total con EDTA como anticoagulante. La muestra es estable 1 semana a 2 - 8° C.

PRECAUCIONES

El reactivo lisante contiene cianuro. No mezclar con ácidos. Lavarse las manos después de manipular. Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. La sangre utilizada en el standard y controles ha resultado negativa en la reacción con HBsAg y HIV. A pesar de ello, manipular con precaución. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

MUY IMPORTANTE

Es sumamente importante homogeneizar muy bien la suspensión de resina antes de cada dispensación. De lo contrario, la cantidad dispensada será variable y la separación incorrecta.

PROCEDIMIENTO

A. Hemólisis de la muestra

1. Dispensar 0,5 ml de Reactivo Lisante en un tubo de ensayo.
2. Añadir 0,1 ml de sangre problema, ST o Control.

Mezclar e incubar durante 5 min. a T° ambiente (20-25°C).

B. Separación de la HbA1

1. Homogeneizar correctamente la suspensión de Resina Tamponada y dispensar 3,0 ml en un tubo de ensayo.
2. Añadir 0,1 ml de hemolizado del apartado anterior (A2).
3. Mezclar la suspensión de resina y hemolizado por espacio de 5 min. (agitador hematológico, vórtex, etc.). Se recomienda tener la resina en agitación continuada para evitar su sedimentación y también para favorecer la reacción en las condiciones apropiadas.
4. Centrifugar x 580 g (2000 rpm aprox.) durante 10 min. Separar el sobrenadante, con cuidado de no aspirar las partículas de resina, y medir su absorbancia (Abs1).

C. Hemoglobina total

1. Dispensar 20 µl de hemolizado del apartado anterior (A2) en un tubo de ensayo.
2. Añadir 5 ml de agua desionizada y mezclar vigorosamente. Medir la absorbancia (AbsT).

Lectura

Longitud de onda: 415 nm.

Blanco: Agua.

Estabilidad: 1 hora.

CÁLCULOS

Hallar el valor del cociente $C = (\text{Abs1} / \text{AbsT})$ de la muestra y del standard. A partir de aquí:

$$\% \text{HbA1 muestra} = (\text{Cmuestra} / \text{Cst}) \times \% \text{HbA1 ST}$$

(El %HbA1 ST está indicado en la etiqueta del vial del standard).

VALORES DE REFERENCIA

Pacientes no diabéticos: 6,0 - 8,3 %.

Pacientes diabéticos no controlados: los valores pueden superar la cifra del 10 %.

Estos valores son a título orientativo. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Sensibilidad, como límite de detección: 2,0%

Linealidad: Hasta 15%. Para concentraciones superiores, diluir la muestra con salina (NaCl 0,9%)

Exactitud, como % de recuperación: 96%

Precisión en la serie, como CV%: 2,5%

Precisión entre series, como CV%: 3,0%

Veracidad. Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

INTERFERENCIAS

Concentraciones elevadas de hemoglobina fetal (HbF) redundarán en un valor anormalmente elevado de HbA1.

Asimismo, pueden obtenerse valores anormalmente bajos en presencia de hemoglobinas anormales (HbS, HbC). La fracción inestable (aldimina) queda eliminada en contacto con la resina y no contribuye al valor final de la glucohemoglobina.

El método es independiente de la T° de trabajo, dentro de un margen que oscila entre los 20 °C y los 30 °C. Valores muy distantes de este margen, pueden dar lugar a resultados incorrectos.

CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de muestras control, (Juego de controles Ref. 99 66 36), en cada proceso de medida para verificar los resultados.

Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones en las medidas.

BIBLIOGRAFÍA

- Trivelli, L.A., Ranney, H.M., Lai, H. (1971) The New Engl. J. Med., 284, 353-357.
- Gabbay, K. H., Hasty, K., Breslow, J. L., Ellison, R.C., Bunn, H. F., Gallop, P. M. (1977). J. Clin. Endocrinol. Metabol., 44, 859-864.
- Nathan, D.M., Singer, D.E., Hurxthal, K., Goodson, J.D., (1984) New Engl. J. Med., 310, 341-346.
- Johnson, M.W., Dobrea, G.M., Bendezu, R., Wieland, R.G. (1980), Clin. Chim. Acta, 104, 319-328.
- Flückiger, R., Woodt, T., (1985) Clin. Chem., 31, 114-117.

Distribuido por



958 412 886



629 636 705



<http://www.cromakit.es/>

Calle Tucumán 8 Nave B 18200 Maracena (Granada)

