

Prueba rápida para la determinación de Glicohemoglobina en sangre humana.

Para uso Profesional de Diagnóstico In Vitro.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

A través de la circulación de los glóbulos rojos, la glicohemoglobina se forma continuamente por la adición de la glucosa a la terminal "N" de la cadena Beta de la hemoglobina. Este proceso no enzimático refleja el promedio de exposición de la glucosa a la hemoglobina, sobre un período extenso de tiempo. En un estudio clásico, Trivelli demostró que el nivel de la glicohemoglobina en sujetos diabéticos se elevaba de 2 a 3 veces el nivel comparado con individuos normales. Algunos investigadores han recomendado que el nivel de glicohemoglobina se ubica como indicador del control de la diabetes, puesto que niveles normales indicarían que el paciente está respondiendo al tratamiento. La glicohemoglobina ha sido definida operacionalmente como la "Fracción Rápida" de la hemoglobina (Hb-A1a, A1b, A1c) la cual fluye primero durante la cromatografía en columna con resinas de intercambio iónico. La hemoglobina no glicosilada, la cual constituye el resto de la hemoglobina, ha sido designada HbAo. El procedimiento para la determinación de la glicohemoglobina emplea una resina de intercambio catiónico de débil unión para la separación de la glicohemoglobina (fracción rápida) de la hemoglobina no glicosilada.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Una preparación hemolizada de sangre completa se mezcla continuamente con una resina de intercambio iónico de débil afinidad. Durante este tiempo, HbAo se une a la resina, después de llevarse a cabo la mezcla con la resina, se utiliza el filtro separador para separar la resina del líquido sobrenadante el cual contiene la glicohemoglobina. El porcentaje de la glicohemoglobina es determinado por la medida de la absorbancia a 415nm, de la fracción de glicohemoglobina y la hemoglobina total, calculando el cociente de las absorbancias, y comparando este cociente con el del calibrador empleado.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. Cada equipo de Bio-Glico contiene material para 30 pruebas.
2. 30 tubos con 3 ml. de Resina de intercambio iónico para Glicohemoglobina. Ingrediente activo: 8 mg/dl de resina de intercambio catiónico a pH 6.9 **MEZCLE BIEN ANTES DE USARSE.**
3. Una botella de lisina con 15 ml.
4. 30 filtros separadores.
5. Un calibrador (deberá refrigerarse entre 2°-8° C)
6. Reconstituirse con 1ml. de agua desionizada.
7. Instructivo.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Micropipetas de 0.02 y 0.10 ml.
2. Pipeteador de 0.5 ml. 3ml y 5ml.
3. Tubos 13 x 100nm.
4. Mezclador de hematología

ALMACENAMIENTO

La prueba Bio-Glico es una prueba que puede permanecer estable entre 8°C–30°C. No congele, ni exponga la prueba a temperaturas extremas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso de diagnóstico *In Vitro*.
2. No utilice después de su fecha de expiración.
3. Maneje todas las muestras de pacientes tal y como si fueran potencialmente capaces de transmitir enfermedades.
4. No pipetee las muestras o reactivos con la boca.
5. Todos los materiales deberán ser considerados como potencialmente biopeligrosos. Para desinfectar, utilice autoclave o hipoclorito de Sodio bajo normas tradicionales de uso.
6. El líquido sobrenadante que se encuentra sobre la resina debe ser claro y sin color. La turbidez o decoloración indica deterioro, y el reactivo no debe ser utilizado.
7. No se necesitan aditivos o preservativos, tampoco otros anticoagulantes.

TOMA DE MUESTRA DE SUERO

1. Precaución. Se recomienda el uso de sangre total obtenida mediante EDTA como anticoagulante.
2. La glicohemoglobina permanece estable por una semana a 2°-8°C en sangre total usando EDTA como anticoagulante.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Sueros altamente lipémicos pueden causar falsos resultados altos. Para muestras lipémicas centrifuga y separe las células rojas del plasma y reemplace éste por una cantidad igual de solución salina. Resuspenda las células rojas en las solución salina y proceda con la realización de la prueba. La Hbs y HbC Glucosiladas se unen con la resina la cual produce resultados positivos falsos. La hemoglobina fetal (HbF) no interfiere significativamente con el ensayo, la fracción inestable es eliminada durante la mezcla de la resina por lo que no afecta el valor de la glicohemoglobina.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

A. PREPARACIÓN DEL HEMOLISADO

1. Coloque 0.5ml. del reactivo lisador en los tubos etiquetados como: Calibrador, Control, Muestra 1, etc.
2. Coloque 0.1 ml. de muestra de sangre dentro de los tubos etiquetados apropiadamente. Mezcle hasta que la lisis sea completa.
3. Deje reposar 3 minutos.

B. PREPARACIÓN DE LA GLICOHEMOGLOBINA

1. Antes de usarse, mezcle bien la resina por inversión por lo menos seis veces. Agite el frasco que contiene la resina entre cada toma de reactivo.
2. Coloque 0.1 ml. del hemolizado del paso A que contiene la resina.
3. Coloque el filtro separador dentro del tubo aproximadamente 2 cm. sobre el nivel del líquido.
4. Coloque los tubos en un mezclador automático por 5 minutos.
5. Retire los tubos del mezclador.
6. Presione el filtro separador dentro del tubo hasta que la resina esté compacta.
7. El líquido sobrenadante puede ser vaciado a otro tubo o directamente a la cubeta para medir la absorbancia.
8. Ajuste el instrumento a cero de absorbancia a 415nm usando agua desionizada como blanco.
9. Lea y registre los valores de la absorbancia para el calibrador, control, muestra 1, etc. Estas lecturas son para calcular la Glicohemoglobina.

C. FRACCIÓN DE LA HEMOGLOBINA TOTAL

1. Coloque 5.0 ml. de agua no ionizada en los tubos etiquetados como Calibrador, Control, Muestra 1, etc.
2. Coloque 0.02 ml. de hemolizado preparado en el paso A dentro de los tubos etiquetados. Mezcle.
3. Ajuste el instrumento a cero de absorbancia a 415nm usando agua desionizada como blanco.
4. Lea y registre la absorbancia para el calibrador, control, muestra 1, etc. Estas lecturas son utilizadas en el cálculo de la hemoglobina total.

CÁLCULO DE RESULTADOS

Estas pruebas deben ser leídas antes de que transcurra una hora. Los resultados de los problemas deberán ser calculados de la siguiente manera: Para cada muestra, calcule el cociente entre la absorbancia de la glicohemoglobina y la absorbancia de la hemoglobina total. Usando la siguiente ecuación determine la concentración de los problemas:

- 1) $\frac{\text{Absorbancia Calibrador Glico}}{\text{Absorbancia Calibrador Hb Total}} = C$ (Cociente del Calibrador)
- 2) $\frac{\text{Absorbancia Problema Glico}}{\text{Absorbancia Problema Hb Total}} = C$ (Cociente del Problema)
- 3) $\frac{C (\text{Cociente del Problema})}{C (\text{Cociente del Calibrador})} \times \text{Valor del calibrador}$

= % de Glicohemoglobina del problema

CALIBRACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD

El calibrador para glicohemoglobina es proporcionado en una forma liofilizada y estable que le ha sido asignado un valor establecido por un método de referencia aceptado.

Reconstitución: agregue 1.0 ml. de agua desionizada, mezcle vigorosamente por 10 minutos, observe si hay presencia de material no disuelto. La confiabilidad de los resultados ha sido probada rutinariamente ensayando sueros controles de la misma manera que los problemas. Se sugiere el uso de controles.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Las muestras de pacientes con hemoglobinopatías o disminución en el número de glóbulos rojos algunas veces arrojan resultados incorrectos.

VALORES NORMALES

Normal	6.0-8.3%
Diabético en buen control	7.5-9.0%
Diabético en regular control	9.0-10.0%
Diabético en pobre control	> 10%

EJEMPLO

Un Calibrador con valor de 10.0% de glicohemoglobina tiene Abs.= 0.610 para la fracción de glicohemoglobina y Abs. = 0.635 para la fracción de hemoglobina total. La muestra problema tiene Abs. = 0.775 de glicohemoglobina y Abs. 0.710 de hemoglobina total, la concentración de la glicohemoglobina es:

$$\text{Calibrador} = \frac{0.610}{0.635} = 0.961$$

$$\text{Problema C} = \frac{0.775}{0.710} = 1.09$$

$$\text{Problema \%} = \frac{1.09}{0.961} = 11.3\%$$

CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

LINEARIDAD

El procedimiento de la Glicohemoglobina muestra una linealidad para los niveles de glicohemoglobina en un intervalo de 4.0% -20 – 0%. Las muestras sanguíneas con una hemoglobina total mayor de 18 mg/dl deberá ser diluida X 2 con agua desionizada antes de llevarse a cabo el ensayo.

DENTRO DEL ENSAYO

La precisión dentro del ensayo ha sido establecida con sangre normal y glicohemoglobina elevada veinte veces cada una.

De ensayo a ensayo	Hombre	Des. std.	CV %
Normal	7.8	0.21	2.7
Elevado	13.4	0.23	1.7
Nivel			
Normal	7.6	0.31	4.1
Elevado	13.0	0.60	4.6

ESPECIFICIDAD

Un estudio comparativo usando el procedimiento de glicohemoglobina con otros métodos comerciales muestra una correlación del 95%.

SENSIBILIDAD

La sensibilidad del método Glicohemoglobina es de 0.02% por 0.001 unidades de absorbancia.

REFERENCIAS

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., Diabetología 15, 1 (1978).
3. Gabby, 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 Manag. Vol. 16 (1976).

Distribuido por:
Grupo Industrial MexLab S.A. de C.V.
01800-111-4343
www.grupomexlab.com