



QUIMIHA1C HEMOGLOBINA GLICOSILADA

Finalidade:

Reagente usado para determinação quantitativa Hemoglobina A1c (HbA1c) em amostras de sangue humano. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

O kit QUIMIHA1C - HEMOGLOBINA GLICOSILADA é um exame enzimático no qual as amostras de sangue total são lisadas através de digestão por proteases (Bacilo sp), com liberação de aminoácidos, entre os quais a valina glicada (da cadeia beta de hemoglobina) que servirá de substrato para a frutose oxidase (FVO), presente no reagente, promovendo a formação do peróxido de hidrogênio que será medido colorimetricamente através de uma reação mediada por uma peroxidase. Não é necessário a dosagem separada da Hemoglobina total com o kit QUIMIHA1C - HEMOGLOBINA GLICOSILADA.

A concentração de HbA1c é expressada diretamente com %HbA1c usando-se uma curva de calibração na qual os calibradores possuem valores para cada nível em %HbA1c.

Metodologia:

Enzimática - Direta

Significado Clínico:

A Hemoglobina A1c é um teste importante recomendado pela Associação Americana de Diabetes (ADA) e sua utilidade foi esclarecida no Estudo Prospectivo de Diabetes do Reino Unido (UKPDS) e no Ensaio para Controle do Diabetes e Complicações (DCCT). Atualmente, é recomendado que os pacientes com diabetes realizem o teste de HbA1c a cada 2 – 3 meses como parte do programa de gerenciamento do tratamento de diabetes. A Glicohemoglobina é produzida por uma adição não-enzimática de glicose aos amino grupos na hemoglobina. HbA1c refere-se à glicose modificada na hemoglobina A (HbA) especificamente nos resíduos do Terminal-N das valinas de cadeia beta de hemoglobina. O teste de HbA1c é usado tanto como um índice de medição da glicemia, como na medida de risco para o desenvolvimento de complicações decorrentes do diabetes. Portanto, o teste de HbA1c é um bom indicador do controle da glicemia nos 2-3 meses precedentes.

Reagentes:

Armazenar todos os reagentes refrigerados de 2-8°C.
Reagente R1a: MES pH 7.0 - 5 mM, Proteases - 4 KU/mL, Triton-X-100 - 0.5%, Redox Agents- >10µM
Reagente R1b: MES pH 6.3 - 1 mM, Redox Agent - 0,1 - 3mM, Conservar ao abrigo da luz.
Reagente R2: Tris-Cl pH 8.0 - 15 mM, Enzima FVO - >10U/mL, POD - 90 U/mL, Cromagen - 0.8 mM. Conservar ao abrigo da luz.
Hemolisante: CHES pH 8.7 - 100mM, Triton-X-100- 1%, SDS - 0.45%, Redox Agents - 0.5mM

Preparo do Reagente:

Para analisadores capazes de trabalhar com 3 reagentes, R1a, R1b, R2 estão prontos para uso. Para analisadores capazes de trabalhar apenas com 2 reagentes, os reagentes R1a e R1b devem ser misturados numa proporção 7:3 e descansarem em temperatura 2 a 8°C por uma noite antes da utilização. Para preparar a quantidade suficiente da mistura R1ab, despeje todo o conteúdo do frasco R1b no frasco do R1a. Misture gentilmente por inversão.

Estabilidade do Reagente e Armazenamento:

Os reagentes são estáveis até sua data de validade se armazenados de 2 a 8°C. O reagente de trabalho R1ab uma vez preparado é estável por 4 semanas se armazenada de 2 a 8°C. Os reagentes R1b e R2 são sensíveis à luz.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.
Os reagentes R1b e R2 são sensíveis à luz. Armazene-os em local escuro.
Espécimes contendo material humano devem ser manuseadas como potencialmente infecciosas, usando os procedimentos de segurança de laboratório.
Como em qualquer procedimento de teste diagnóstico, os resultados devem ser interpretados levando-se em consideração todos os outros resultados de testes e estado clínico do paciente. Não use os reagentes após a data de validade informada na embalagem.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância em 700 nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.

5. Calibradores e soros controle.
6. Medidor de tempo.
7. Tubos de ensaio

Amostra:

O exame é formulado para uso com amostras de sangue total humana. Amostra de sangue total humana coletadas com anticoagulantes EDTA podem ser usadas. É recomendado que as amostras sejam utilizadas em até 2 semanas após a coleta, se armazenadas refrigeradas (2 a 8°C).

Procedimento para lisar o sangue total:

- Antes do teste, as amostras de sangue total devem ser homogeneizadas por uma suave inversão pelo menos 5 vezes para ressuspender os eritrócitos assentados.
- Coloque 250µL do hemolisante e adicione 20µL da amostra do sangue total completamente re-suspensa. Misture gentilmente com uma pipetagem apropriada sem criar espuma e incube em temperatura ambiente (25°C) por 10 minutos. Uma lisagem completa poderá ser observada quando ela se tornar uma solução vermelho-escuro límpida. O 'lisado', uma vez preparado, é estável por até 4 horas em temperatura ambiente.

ATENÇÃO: antes de lisar as amostras, calibradores e controles, certifique-se que o protocolo utilizado no analisador não possui o procedimento de lise on board, neste caso não é necessário o preparo das amostras, calibradores e controles, pois o preparo será realizado pelo próprio equipamento.

Preparo do Paciente:

Não é necessária uma preparação especial do paciente. Não é requerido jejum do paciente. Nenhum dos aditivos especiais ou preservativos diferentes de anticoagulantes são requeridos. Colete sangue venoso com EDTA usando técnica asséptica. Todas as amostras humanas devem ser consideradas como potencialmente perigosas. Então, devem ser usadas precauções universais no manuseio de amostras(luvas, artigos de vestuário de laboratório, evitar produção de aerossol, etc.)

Interferências:

O exame não é afetado por interferência das seguintes substâncias nas concentrações indicadas: ácido ascórbico 12 mg/dL, bilirrubina total 15 mg/dL, bilirrubina (conjugada) 13mg/dL, glicose 4000mg/dL, triglicérides 4000mg/dL, ácido úrico 30 mg/dL, uréia 80mg/dL.

HbA1c acetilado, carbamilado e lábil não afetam adversamente a reação enzimática utilizada nesse exame. Hemoglobina variante S, C e E também não interfere significativamente com o exame.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 700 nm.
Tipo de Reação: Ponto Final
Direção:Crescente
Relação Amostra/Reativo: 1:10
Vol. Amostra: 100 µL
Vol. Do R1a : 500 µL
Vol. Do R1b: 200 µL
Vol. Do R2: 300 µL
Tempo para adição de R1b: 120seg. após inserção de R1a+amostra
Tempo para adição de R2: 180seg. após inserção de R1b
Primeira leitura (OD1): efetuar instantes antes de adicionar R2
Segunda leitura (OD2): efetuar 180seg. depois de adicionar R2

Calibração:

Recomendamos realizar calibração semanal afim de garantir exatidão nos resultados.
Utilizar o Calibrador HbA1C Cód.7051 (3 níveis).
Os calibradores e controles devem ser manipulados como se fossem amostras de sangue total, verificar as instruções no item "Amostra" dessa instrução de uso.

Procedimento Automatizado:

Vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente para aplicação no sistema automatizado

Procedimento Manual:

Contacte o Serviço de Atendimento ao Cliente para obter as orientações necessárias.

Cálculos:

Contacte o Serviço de Atendimento ao Cliente para obter as orientações necessárias.

Exemplo:

Contacte o Serviço de Atendimento ao Cliente para obter as orientações necessárias.

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 12.0% HbA1C. Amostras com valores acima de 12% não devem ser diluídas e retestadas. Deve-se reportar como valores acima de 12% (>12%).

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso do Controle HbA1C (nível 1 e 2) Ebram Cód. 7052.

Valores Esperados:

0 a 6 anos: 7.5 - 8.5%
6 a 12 anos: < 8%
13 a 19 anos: < 7.5%
Indivíduos não-diabéticos: 3 – 6%
Indivíduos com a diabetes controlada: 6 – 9%.
Indivíduos com diabetes sem controles: valores altos como 20%.
Cada laboratório deve estabelecer sua própria faixa de referência em seu país, levando-se em conta o sexo, idade e raça.

Para resultados rastreáveis ao IFCC (Federação Internacional de Química Clínica) deve-se calcular:

$$\text{HbA1c (NGSP)}[\%] = \text{HbA1c (IFCC)} [\text{g/dL}] \times 0,915 + 2,15$$

Estudos Comparativos:

Os seguintes valores de HbA1c foram obtidos comparando-se o exame de HbA1c enzimático direto com um método HPLC legalmente comercializado.

| | Aplicação no sangue total | |
|----------------------------|---------------------------|--|
| n | 44 | |
| Slope | 1.0212 | |
| Intercept | 0.0135 | |
| Coefficiente de Correlação | 0.9874 | |
| Range dos Valores | 5% - 13% HbA1c | |

Precisão:

Estudos de precisão foram conduzidos com os reagentes do kit QUIMIHA1C - HEMOGLOBINA GLICOSILADA. Dentro da partida e estudos de precisão total foram feitos testando-se 2 níveis de amostra de acordo com os procedimentos da NCCLS EP-5. Os dados de precisão foram resumidos na tabela abaixo:

| | Level 1 (%HbA1c) | Level 2 (%HbA1c) |
|----------------------|---------------------|---------------------|
| Média dos Valores | 5.7% | 10.3% |
| Intraensaio SD | 0.06 | 0.07 |
| Intraensaio CV% | 1.0% | 0.7% |
| Interensaio precisão | 0.10 | 0.18 |
| Interensaio precisão | 1.8% | 1.8% |

Exatidão:

O Estudo de precisão foi executado de acordo com o protocolo NCCLS EP5 com dois níveis diferentes de amostra de sangue de %HbA1c, uma no nível normal e outra com o range patológico. A evolução do estudo levou 20 dias usando um lote de referência do reagente QUIMIHA1C - Hemoglobina Glicosilada, controles foram inclusos no estudo. O estudo foi realizado no analisador Hitachi 917.

As amostras de sangue com valores de % HbA1c utilizadas no estudo foram obtidas de uma fonte comercial certificada, ProMedDx, LLC e são certificadas e aprovadas pelo IRB.

| | Amostra Normal ID 11004462 | Amostra Patológica ID 10989897 |
|------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| Numero de pontos | 80 | 80 |
| Média Total | 5.7 | 10.3 |
| Desvio | 0.10 | 0.18 |
| C.V. | 1.8% | 1.8% |

Sensibilidade Metodológica:

4.0% HbA1c

Especificidade:

Nos estudos comparativos realizados apresentamos dados determinados em um analisador. A comparação com soros controles já validados mostrou uma especificidade analítica adequada.

Observações:

- A concentração de HbA1c é expressa diretamente como %HbA1c pela utilização de uma curva de calibração apropriada na qual os calibradores tenham valores para cada nível em %HbA1c. Os valores reportados estão alinhados com o sistema de 'Controle de Diabetes e Testes Clínicos' (DCCT) e consequentemente reportados no formato NGSP. Nenhum cálculo é necessário.
- Os valores da IFCC podem ser calculados pelo uso da fórmula de conversão publicada: NGSP = [0.915 x (IFCC)]+2.15.
- A Hemoglobina deve obrigatoriamente estar entre 9 e 21 g/dl.
- A Hemoglobina F acima de 10% pode interferir na exatidão do ensaio.
- Não deve-se utilizar água como branco de amostra. Caso haja necessidade utiliza o calibrador HbA1C Nível I.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: R1a= 1 x 13,8mL + R1b= 1 x 5,9mL + R2= 1 x 8,2mL + Hemolisante= 1 x 30mL.

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

Referência Bibliográfica:

1. Goldstein, D.E. et al, Diabetes Care. 27(7):1761-73 (2004)
2. United Kingdom Prospective study, Lancet 352: 837-53 (1998)
3. Little, R. et al., Clin Chemistry, 47: 1985-1992 (2001)
4. American Diabetes Association. Clinical practice recommendation: standards of medical care for patients with diabetes mellitus. Diab Care 22 (supp): S32-41 (1999)
5. Goldstein et al, Clin Chem 32: B64-B70 (1986)
6. Hoelzel W et al. IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan and Sweden: a method-comparison study. Clin Chem 2004;50: 166-74



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

| | | |
|-------------------------|-----------------------|-------|
| GENERAL | | |
| Measurement Mode: | ABSORB | |
| Reaction Mode: | R-S-SR1-SR2 | |
| Calibration Mode: | Lin Rear | |
| Reagent Blank: | NO Blank | |
| Cleaner: | No | |
| Wavelength: | 700 nm | |
| Decimal Position: | 2 | |
| Unit: | % | |
| ANALYSIS | | |
| Dilution Name: | STD: | |
| Factor: | Main STD: | |
| Time: | Sample Dil Name: | |
| Post Dil Factor NO: | Conc. Factor NO: | |
| Sample: | Circle: | 1 |
| Volume: | Dil: | 0.0ul |
| Reagent: | Circle: | 1 |
| Volume: | | |
| Star Reagent 1: | Circle: | 3 |
| Volume: | Dil: | 0.0ul |
| Star Reagent 2: | Circle: | 13 |
| Volume: | Dil: | 0.0ul |
| CALCULATION | | |
| Sample Limit: | No | |
| Point: | | |
| Reaction Direction: | Increase | |
| Check: | On | |
| Conversion Factor: | 1.0000 | |
| Offset: | 0.0000 | |
| Test Range Low: | Off | |
| High: | Off | |
| Norm Range Low: | No | |
| High: | No | |
| Number of Steps: | 1 | |
| Calculation Step A: | Endpoint | |
| Readings First: | 12 | |
| Last: | 20 | |
| Reaction Limit: | | |
| Point: | | |
| Calib. Interval: | | |
| CALIBRATION | | |
| Reagent Blank: | On request | |
| Reagent Range: | | |
| Reagent Range Low: -0.1 | Blank Range Low: -0.1 | |
| High: 0.4 | High: 0.4 | |
| Factor: | | |
| Calibrator Pos: | * | |
| STD1: | STD2: | ** |
| STD3: | STD4: | No |
| STD5: | STD6: | No |
| STD7: | STD8: | No |
| Calc. Model: | | |
| Correction STD: | | |
| Replicate: | Dual | |
| Deviation: | No | |
| CONTROL | | |
| CS1 - *** | | |
| CS2 - *** | | |
| CS3 - No | | |

(*) Definido pelo operador
 (**) Inserir os valores do calibrador HBA1C
 (***) Inserir os valores do controle HBA1C
 Dispomos do protocolo que executa o Lise on board. Contate o SAC
APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

| | | | | |
|-------------------------|-----------------------|----------|----------------|----------|
| Test Name: | Test: | | | |
| Test Bar Code: | | | | |
| Test Type: | Curve Type: | | | |
| Unit: | Nº of Decimal Places: | | | |
| Primary Wavelength: | Secondary Wavelength: | | | |
| Read Time Interval: | Sample Blank: | | | |
| Factor: | | | | |
| Calibration Interval: | | | | |
| Normalization Interval: | | | | |
| Nº of Calibrators: | Nº of Replicates: | | | |
| Low Blank A Limit: | High Blank A Limit: | | | |
| Low A Limit: | High A Limit: | | | |
| Low Normal: | High Normal: | | | |
| Linearity Limit: | Curve S.D Limit: | | | |
| Test Name: | Test: | | | |
| Test Bar Code: | | | | |
| Sample Volume: | Sample Diluent: | | | |
| Reagent Dilution Ratio: | Predilution Ratio: | | | |
| Reagent Dilution: | | | | |
| | Reagent Volume | Bar Code | Diluent Volume | Lag Time |
| Reagent 1 | | | | |
| Reagent 2 | | | | |
| Reagent 3 | | | | |
| Reagent 4 | | | | |
| Comments: | | | | |

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

| | |
|--------------------|--|
| Name: | |
| Abbr. Name: | |
| Mode: | |
| Wavelength: | |
| Unit: | |
| Decimals: | |
| Low Conc: | |
| High Conc: | |
| Calibrator Name: | |
| Repeat: | |
| Number: | |
| Concentration: | |
| Interval: | |
| Cut off: | |
| Prozone Check: | |
| Ref Male Low: | |
| Ref Male High: | |
| Ref Female Low: | |
| Ref Female High: | |
| Ref Pad Low: | |
| Ref Pad High: | |
| Control 1: | |
| Control 2: | |
| Control 3: | |
| Correl Factor: | |
| Correl Offset: | |
| DUAL MODE | |
| Name: | |
| Sample Blank: | |
| R1 Bottle: | |
| Normal Volume: | |
| Run Volume: | |
| SAMPLE | |
| Normal Volume: | |
| Run Volume: | |
| R2 Bottle: | |
| Normal Volume: | |
| Run Volume: | |
| Predilution: | |
| Slope Blank: | |
| Delay Min Time: | |
| Linearity Limit: | |
| Point One Two: | |
| Incubation Time: | |
| Low Absorbance: | |
| High Absorbance: | |
| R ABS L Limit: | |
| R ABS H Limit: | |
| Substr Denatation: | |
| Reagent Blank: | |
| R ABS Deviation: | |
| Cal Low Limit: | |
| Cal High Limit: | |
| Factor: | |
| MONO MODE | |
| Name: | |
| Sample Blank: | |
| R1 Bottle: | |
| Normal Volume: | |
| Run Volume: | |
| SAMPLE | |
| Normal Volume: | |
| Run Volume: | |
| Delay Min Time: | |
| Linearity Limit: | |
| Predilution: | |
| Incubation Time: | |
| Point One Two: | |
| Low Absorbance: | |
| High Absorbance: | |
| R ABS L Limit: | |
| R ABS H Limit: | |
| Substr Denatation: | |
| Reagent Blank: | |
| R ABS Deviation: | |
| Cal Low Limit: | |
| Cal High Limit: | |
| Factor: | |
| (*) | |
| (**) | |
| (***) | |
| (#) | |

APLICAÇÃO PARA BTR 810

| | |
|---------------------|--|
| Name: | |
| Point Final: | |
| Unit: | |
| Mode Latus: | |
| Filter: | |
| Tempo Estab: | |
| Factor: | |
| Tempo de Incubação: | |
| Tempo de Intervalo: | |
| Nº de Intervalo: | |
| Temperatura: | |
| Volume Amoçalo: | |
| Time Remoço: | |
| Estandart: | |

APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

| | |
|----------------|--|
| Mode: | |
| Latus: | |
| Filter: | |
| Temperatura: | |
| Volume Amoç: | |
| Unit: | |
| Inclinação: | |
| Caldeia: | |
| Padro: | |
| Factor: | |
| Delay Inicial: | |
| Quant Inter: | |
| Tempo Inter: | |
| Tempo Estab: | |

APLICAÇÃO PARA BIO 2000

| | |
|---------------------|--|
| Mode: | |
| SW1: | |
| Blank: | |
| Blank Amos Pad: | |
| Temp: | |
| Vol Amoç: | |
| Ref: | |
| Fat: | |
| Padro: | |
| Pad1: | |
| Unit: | |
| Dev: | |
| Int Cho: | |
| nº Int: | |
| qAMIN: | |
| SLim Lin: | |
| Dis: | |
| Lim Lin - Min/Max: | |
| Abs Real - Min/Max: | |
| Abs Pad - Min/Max: | |
| V/Vn - Min/Max: | |

APLICAÇÃO PARA RA-XT

| | |
|------------------------|--|
| Name: | |
| Imunoassav: | |
| Chemicalv Test: | |
| Reagent: | |
| Inverse Chemicalv: | |
| % Sample Volume: | |
| Wavelength: | |
| Bichromatic Chemicalv: | |
| Bichromatic Factor: | |
| R1: | |
| R2: | |
| Re Limit 1: | |
| Re Limit 2: | |
| Deviation Limit: | |
| Delay Time: | |
| Blank Type: | |
| Incubate: | |
| % Reagent Volume: | |
| 2nd Reagent: | |
| 2nd Reagent Volume: | |
| A2 Delay: | |
| Unit: | |
| Unit Factor: | |
| Decimal Point: | |
| RBI Low: | |
| RBI High: | |
| Range Low: | |
| Range High: | |
| Calibration Factor: | |
| Reagent Rate: | |
| Standard Value: | |
| Normal Low: | |
| Normal High: | |
| Slope: | |
| Intersect: | |
| C1*10E-6: | |
| C2*10E-6: | |
| D1*10E-6: | |
| Delta R: | |
| Linear Factor: | |
| Final Limit: | |
| Endpoint Limit: | |
| (*) | |
| (**) | |

APLICAÇÃO PARA AIRONE

| | | |
|--------------------|---------------|----------------|
| Measure Unit: | Decimals: | Reaction Type: |
| Volume (µl): | Reagent 1: | Urine: |
| Abs Range (m Abs): | Min: | Reagent 2: |
| Linearity Limit: | | Max: |
| Contaminating: | | Reagent Blank: |
| Filter 1: | | Differential: |
| Time (sec): | Mix 1: | Filter 2: |
| | Mix 2: | |
| Measurement Type: | Incubation 1: | Lag Phase: |
| Normal Range: | Incubation 2: | Measure: |
| | | Factor: |
| Age (yrs) | Homens | Mulheres |
| Below 10: | Min. | Max. |
| From 10 to 80: | | |
| Over: | | |

Ebram Prods.Laboratoriais Ltda@.
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001
 Tel.: (11) 2291-2811
 Indústria Brasileira
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31
 www.ebram.com
 sac@ebram.com
 SAC.: (11) 2291-2811
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen
 CRF-SP - 37.451
 Nº do Reg. MS: 10159820171
 Edição: ago/2016

O ensaio QUIMIHA1C- Hemoglobina Glicosilada somente é realizado em analisadores que possuem o filtro 700nm. Para obtenção do filtro 700nm para o analisador Cobas Mira, entre em contato com o SAC Ebram.
 Os demais analisadores expressos nesta instrução de uso não permitem a inclusão de um filtro adicional. Dispomos de protocolos para outros analisadores e protocolos com lise das amostras on board, entre em contato com SAC EBRAM.