

# cobas HbA1c Test

Hemoglobina A1c

REF 06378676 190

▽ 10

SYSTEM cobas b 101

## Español

### Uso previsto

El instrumento **cobas b 101** es un sistema de diagnóstico in vitro para la determinación cuantitativa de la hemoglobina A1c en % (DCCT/NGSP) y la hemoglobina A1c en mmol/mol (IFCC) en sangre capilar y sangre venosa total humanas por fotometría de transmisión. Asimismo calcula la concentración de la glucemia media estimada (eAG). El sistema está concebido para el uso profesional en el laboratorio clínico o en los lugares de atención del paciente.

### Generalidades

La hemoglobina (Hb) es una proteína férrica de color rojo localizada en los eritrocitos. Su función principal es el transporte de oxígeno y de dióxido de carbono en la sangre. Existen diferentes variedades de la Hb, como por ejemplo la HbA adulta y la HbF fetal, así como derivados como la Hb acetilada, glucosilada, etc. En adultos, la HbA constituye la fracción más grande (> 95 %) de la Hb y consiste en 4 cadenas proteicas (2 cadenas alfa y 2 cadenas beta). Una de las hemoglobinas glucosiladas es la HbA1c, una subfracción formada por la adición de varios azúcares a la molécula HbA. Se forma en dos pasos por la reacción no enzimática de la glucosa con el grupo amino N-terminal de la cadena β de la hemoglobina de adultos normales (HbA). El primer paso es reversible y resulta en la HbA1c lábil que se reordena en el segundo paso de la reacción para generar la HbA1c estable. En los eritrocitos aumenta la cantidad relativa de HbA transformada en HbA1c estable según la concentración promedio de glucosa en sangre. La formación de la HbA1c estable depende de la vida media de los eritrocitos, de aproximadamente 100 a 120 días. En consecuencia, la concentración de HbA1c determinada refleja más bien el nivel promedio de glucemia en los 2 a 3 meses previos a la medición que las variaciones diarias de los niveles de glucemia. Por eso, la HbA1c permite controlar los niveles de glucemia a largo plazo en individuos con diabetes mellitus.<sup>1,2,3,4,5,6</sup>

### Principio del test

La muestra de sangre se diluye y se mezcla con un tampón TRIS para liberar la hemoglobina de los eritrocitos. Una fracción de la muestra se traslada a una cámara de reacción donde se mezcla con laurilsulfato de sodio (SLS) formándose un complejo entre SLS y hemoglobina. La concentración de la hemoglobina total se calcula midiendo el complejo SLS-hemoglobina a una longitud de onda de 525 nm. En otra fracción de la muestra, la hemoglobina A1c (HbA1c) se desnaturaliza por ferricianuro de potasio y laurato de sacarosa para después fijarse al anticuerpo anti-HbA1c en la partícula de látex. En la reacción de inhibición de la aglutinación de látex, el antígeno sintético del aglutinador fija el anticuerpo anti-HbA1c. La concentración de la HbA1c se calcula midiendo la reacción de inhibición de la aglutinación del látex a una longitud de onda de 625 nm. El valor porcentual de la hemoglobina A1c se mide formando el cociente de HbA1c - hemoglobina total.

### Reactivos

Un test contiene:

Tampón de dilución: TRIS (hidroximetilaminometano): 0.94 mg

Hemólisis de eritrocitos: Laurilsulfato de sodio: 0.15 mg

Cloruro de sodio: 0.21 mg

Desnaturalización: Ferricianuro de potasio: 60 µg, laurato de sacarosa: 40 µg

Conjugado de anticuerpo anti-HbA1c-látex: 85 µg

Agglutinación: Conjugado de glucopéptido-globulina: 2 µg

### Medidas de precaución y advertencias

Producto sanitario para diagnóstico in vitro.

Observe las medidas de precaución habituales para la manipulación de reactivos.

Elimine los residuos según las normas locales vigentes.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

### Instrucciones de uso

Abra la bolsa por un lado tirando de la muesca del aluminio.

Deseche el disco si la bolsa está abierta o dañada, si falta desecante o si el disco está dañado o sucio con desecante suelto u otras partículas, especialmente en la zona de aplicación de sangre.

Use **cobas HbA1c Control** de la misma manera que las muestras.

### Conservación y estabilidad

Conservar a 2-30 °C hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congelar. Las pruebas conservadas en nevera deben llevarse a temperatura ambiente en la bolsa cerrada como mínimo 20 minutos antes de efectuar el test. Una vez abierta la bolsa, emplear el test dentro de 20 minutos. Proteger el disco de la luz solar directa. No conservar las bolsas abiertas en nevera.

### Obtención y preparación de las muestras

Utilice únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Emplear exclusivamente sangre capilar fresca, sangre venosa total tratada con heparina de litio, K<sub>2</sub>-EDTA o K<sub>3</sub>-EDTA.

No emplear otros anticoagulantes u aditivos. En el disco se indica claramente dónde aplicar la muestra. En caso de emplear muestras de una venopunción o un control, emplear una pipeta estándar o un cuentagotas para aplicar la muestra. El disco se llena automáticamente. No forzar la muestra a penetrar en el disco. No emplear una jeringa. Asegurarse de que la sangre no entre en contacto con el disco salvo la zona de aplicación de la muestra y la tapa giratoria.

**Volumen de muestra:** 2 µL

### Estabilidad de las muestras en el disco

Una vez aplicada la muestra, el disco debe insertarse dentro de 60 segundos. Consulte las instrucciones del manual de usuario.

### Material suministrado

- REF 06378676190, **cobas HbA1c Test**, 10 pruebas

### Material requerido adicionalmente (no suministrado)

- Dispositivo de punción de un solo uso (p. ej. Accu-Chek Safe-T-Pro Plus)
- REF 06380204190, **cobas HbA1c Control**
- REF 06378668190, instrumento **cobas b 101**
- Optical Check Disc (disco de chequeo óptico)
- Equipo usual de laboratorio (p. ej. pipeta de transferencia de muestra para la sangre venosa o algodón empapado en alcohol para la punción del dedo)
- Cronómetro

### Calibración

Este método ha sido estandarizado frente al método de referencia de la IFCC para la medición de la HbA1c en sangre humana<sup>7,8</sup> y puede transferirse a resultados que pueden rastrearse hasta el método DCCT/NGSP mediante cálculo. Cada lote de disco del test **cobas HbA1c** puede rastrearse a IFCC.

El instrumento registra automáticamente los datos de calibración específicos del lote del código de barras impreso en el disco. El usuario no tiene que efectuar una calibración.

### Control de calidad

Para el control de calidad emplear **cobas HbA1c Control**.

Adaptar los intervalos y límites de control a los requisitos individuales del laboratorio. Los resultados obtenidos deben hallarse dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas a seguir en caso de obtener valores fuera del intervalo definido.

Cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

### QC info disc

Cada estuche **cobas HbA1c Control** contiene un disco con los datos de control de calidad específicos del lote respectivo llamado QC info disc. Este disco incluye los valores diana y los intervalos para el test **cobas HbA1c**.

La pantalla del instrumento indica al usuario cuándo debe introducir el disco QC info disc. El instrumento **cobas b 101** lee la información contenida en el disco sobre los intervalos diana específicos del lote.

### Presentación de los resultados

Una vez transcurrida la determinación automática, el instrumento **cobas b 101** indica el resultado al cabo de apenas 6 minutos. El resultado

# cobas HbA1c Test

## Hemoglobina A1c



de la medición de la hemoglobina A1c se indica en porcientos (DCCT/NGSP) y en mmol/mol (IFCC).<sup>9</sup>

La relación aproximada entre HbA1c y el valor medio de glucemia durante los 2 a 3 meses previos a la medición ha sido objeto de diversos estudios.<sup>10</sup> Se ha establecido la correlación siguiente:

Estandarización según DCCT/NGSP (HbA1c en %)

Glucosa media estimada (eAG) [mmol/L] =  $1.59 \times \text{HbA1c} (\%) - 2.59$  o

Glucosa media estimada (eAG) [mg/dL] =  $28.7 \times \text{HbA1c} (\%) - 46.7$

El modo de indicación de los resultados eAG debe programarse previamente. Para mayor información, consulte el manual del operador del analizador correspondiente.

### Limitaciones del análisis - interferencias

1. El test no está destinado al diagnóstico de la diabetes mellitus ni al seguimiento diario de la glucosa y no sustituye el control domiciliario diario de orina o glucemia.
2. Interpretar siempre con gran cautela cualquier tipo de resultado de pacientes con variantes de Hb. Las hemoglobinas anormales pueden afectar la vida media de los eritrocitos o la velocidad de glucosilación in vivo. En estos casos, aun obteniendo resultados analíticamente correctos, no se dispone de un control del nivel glucémico equivalente al de personas con hemoglobina normal.<sup>11</sup>
3. Toda disminución de la vida media de los eritrocitos reducirá la exposición de éstos a la glucosa disminuyéndose el valor de HbA1c en mmol/mol (IFCC) y en % (DCCT/NGSP) aun cuando el nivel promedio de glucemia sea elevado en función del tiempo. La reducción de la vida media de los eritrocitos puede deberse, entre otros, a la anemia hemolítica u otras enfermedades hemolíticas, a células falciformes de carácter homocigoto, al embarazo o a hemorragias crónicas o recientes de gran magnitud. En las personas con estas circunstancias se recomienda interpretar los resultados del test HbA1c con cautela
4. Este test no detecta la HbF glucosilada, ya que no contiene la cadena beta glucosilada característica de la HbA1c. Sin embargo, la HbF se mide en el test de Hb total y por consiguiente, las muestras con altas concentraciones de HbF (> 10 %) pueden producir resultados de HbA1c en mmol/mol (IFCC) y en % (DCCT/NGSP) inferiores a los previstos.<sup>12,13</sup>
5. El resultado del test no se indica si la concentración de hemoglobina es inferior a 6 g/dL o superior a 20 g/dL.

Criterio: Recuperación dentro de  $\pm 10$  % del valor inicial con una concentración de HbA1c del 6 %.

Ictericia: Sin interferencias significativas hasta una concentración de bilirrubina conjugada/sin conjugar de 1000  $\mu\text{mol/L}$  (60 mg/dL).

Lipemia (Intralipid): Sin interferencias significativas con una concentración de Intralipid de hasta 500 mg/dL. No existe una correlación concluyente entre la concentración de triglicéridos y turbidez.

Glucemia: Sin interferencias significativas hasta una concentración de glucosa de 111 mmol/L (2000 mg/dL). No se requieren muestras recogidas en ayunas.

Factores reumatoideos: Sin interferencias significativas hasta un nivel de factor reumatoide de 750 UI/mL.

Fármacos: No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas.<sup>14,15</sup>

En concentraciones fisiológicas no se encontraron reacciones cruzadas con HbA0, HbA1a, HbA1b, hemoglobina acetilada, hemoglobina carbamida ni con la HbA1c lábil. El presente test es específico de la hemoglobina glucosilada en el término N de la cadena beta. De este modo, el test puede emplearse para determinar el estado metabólico de pacientes con las hemoglobinopatías más frecuentes (HbAS, HbAC, HbAE).

Para el diagnóstico, los resultados del test siempre deben interpretarse teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, el análisis clínico así como los resultados de otros exámenes.

### Intervalo de medición

20-130 mmol/mol (IFCC) o 4-14 % (DCCT/NGSP)

### Valores teóricos

En 2009, un comité internacional de expertos compuesto por representantes de la ADA (asociación americana de diabetes), la IDF (federación internacional de diabetes) y la EASD (asociación europea para el estudio de la diabetes) recomendó el valor umbral de  $\geq 6.5$  % de HbA1c

para el diagnóstico de la diabetes. En 2010, la ADA reiteró esta recomendación.

El método de HbA1c empleado debe certificarse por el NGSP (programa nacional de estandarización de hemoglobina glucosilada) y estandarizarse o rastrearse al análisis de referencia, el DCCT (estudio sobre el control de la diabetes y sus complicaciones). Parece que la disponibilidad inmediatamente del resultado de la HbA1c ayuda al paciente a cumplir con la terapia y perfeccionar el control glucémico. Los niveles de HbA1c superiores al intervalo de referencia establecido indican la existencia de una hiperglucemia en los dos a tres meses previos a la medición o incluso anteriormente. La ADA recomienda analizar la HbA1c de diabéticos 2-4 veces al año. La reducción de la HbA1c a un nivel igual o inferior al 7 % puede reducir las complicaciones microvasculares y neuropáticas de la diabetes y, en caso de efectuarse rápidamente después del diagnóstico de diabetes, contribuye a reducir la enfermedad microvascular a largo plazo. Por esto, un objetivo razonable para adultos, salvo embarazadas, es una reducción de HbA1c a valores inferiores al 7 %.<sup>16,17,18,19</sup>

Los médicos deberían modificar el tratamiento en pacientes con valores de HbA1c constantemente superiores al 8.0 %. Los pacientes con valores de HbA1c entre los 5.7 y 6.4 % deberían someterse a un programa efectivo de apoyo a largo plazo con el objetivo de perder un 7 % de peso e incrementar la actividad física a como mínimo 150 minutos semanales de actividad moderada como la marcha nórdica. Algunos pacientes pueden requerir objetivos de HbA1c más estrictos siempre que se evita la hipoglucemia u otros efectos adversos del tratamiento. Los niveles de HbA1c inferiores al intervalo de referencia establecido pueden indicar un episodio reciente de hipoglucemia, la presencia de variantes de Hb o bien la reducción de la vida media de los eritrocitos.

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

### Datos específicos del funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento de los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

### Precisión

La precisión ha sido determinada mediante muestras de sangre y controles según un protocolo interno.

La precisión intermedia se midió con 3 lotes del test HbA1c empleando 4 muestras de sangre total con EDTA en los puntos de decisión médica y 2 soluciones de control durante 21 días en cada vez 2 series con muestras aleatorias en mediciones por duplicado por serie y muestra. La repetibilidad se analizó en muestras de sangre total en ciclos de 21 mediciones por muestra. Se han obtenido los siguientes resultados:

Muestra	Repetibilidad			Precisión intermedia		
	Media % HbA1c	DE % HbA1c	CV %	Media % HbA1c	DE % HbA1c	CV %
Muestra ligeramente concentrada	5.3	0.11	2.0	4.9	0.14	2.8
Muestra en el punto de decisión médica	6.2	0.12	2.0	5.2	0.11	1.7
Muestra moderadamente concentrada	8.0	0.12	1.5	7.3	0.10	1.4
Muestra altamente concentrada	13.0	0.22	1.7	10.5	0.11	1.0
Nivel de control 1	5.7	0.14	2.5	5.5	0.13	2.3
Nivel de control 2	9.9	0.17	1.8	9.3	0.20	2.2

### Comparación de métodos

Se compararon los resultados obtenidos con 3 lotes diferentes del test **cobas** HbA1c en el instrumento **cobas b** 101 empleando muestras de sangre total heparinizada con los resultados obtenidos en un analizador **cobas c** 501 empleando el test Tina-quant Hemoglobin A1c Gen.3. A continuación se indican los resultados de un lote representativo:

Número de muestras (n) = 108

# cobas HbA1c Test

## Hemoglobina A1c



Desviación media = 0.24 % de HbA1c

Límite inferior del intervalo de confianza del 95 % de las desviaciones = -0.17 % de HbA1c

Límite superior del intervalo de confianza del 95 % de las desviaciones = 0.66 % de HbA1c

Las concentraciones de las muestras se situaron entre 4.2 y 9.9 % de HbA1c (valores DCCT/NGSP).

### Referencias bibliográficas

- Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, et al. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 1986;32:B64-B70.
- Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, et al. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care* 1995;18:896-909.
- Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care* 1994;17:938-939.
- Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes* 1993;42:1549-1554.
- Flückiger R, Mortensen HB. Review: glycated haemoglobins. *J Chromatogr* 1988;429:279-292.
- Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science* 1978;200:21-27.
- Kobold U, Jeppsson JO, Duelffer T, et al. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997;43:1944-1951.
- Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:78-89.
- Consensus Statement on the Worldwide Standardization of the Hemoglobin A1c Measurement. American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and International Diabetes Federation Consensus Committee. *Diabetes Care* 2007;30:2399-2400.
- Nathan DM, Kuenen J, Borg R, et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008;31:1473-1478.
- Miedema K. Influence of hemoglobin variants on the determination of glycated hemoglobin. *Klin Lab* 1993;39:1029-1032.
- Chang J, Hoke C, Ettinger B, et al. Evaluation and Interference Study of Hemoglobin A1c Measured by Turbidimetric Inhibition Immunoassay. *Am J Clin Pathol* 1998;109(3):274-278.
- Rohlfing C, Connolly S, England J, et al. Effect of elevated fetal hemoglobin on HbA1c measurements: four common assay methods compared to the IFCC reference method. *Clin Chem* 2006;52 Suppl 6:A108.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-385.
- The International Expert Committee. International Expert Committee Report on the Role of the A1C Assay in the Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* 2009, 32:1327-1334.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2010. *Diabetes Care*, 2010; 33 Suppl. 1: S11-S61.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2011[J]. *Diabetes Care*, 2011, 34 Suppl. 1: S11-S61.
- 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 Engl J Med* 1993;329:977-986.

Para más información, consulte el manual del operador del instrumento correspondiente y las metódicas de todo el material empleado.

En la presente metódica se emplea como separador decimal un punto para distinguir la parte entera de la parte fraccionaria de un número decimal. No se utilizan separadores de millares.

### Símbolos

Roche Diagnostics emplea los siguientes símbolos y signos adicionalmente a los indicados en la norma ISO 15223-1.

SYSTEM

Analizadores/instrumentos adecuados para los reactivos

La barra del margen indica cambios o suplementos significativos.

© 2013, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim  
www.roche.com

