

HEMOGLINET
PRUEBA RÁPIDA DE HEMOGLOBINA GLICADA (HbA1c)
 (Sangre)

Prueba rápida en cassette para la detección semicuantitativa de hemoglobina glicada (HbA1c) en sangre total

[USO DESEADO]

La prueba rápida HEMOGLINET es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral con interpretación visual, que se emplea para la detección semicuantitativa de hemoglobina glicada (HbA1c) humana en sangre total. La HbA1c es utilizada como ayuda en el monitoreo de diabetes mellitus.

[RESUMEN]

La American Diabetes Association (ADA) aprobó a la hemoglobina glicada o glicohemoglobina (más conocida por sus siglas HbA1c), como un indicador que permite monitorear la concentración promedio de glucosa en sangre durante los últimos 3 meses.

La hemoglobina A (HbA) constituye el 97% de la hemoglobina total del adulto (estado que se alcanza a partir del primer año de vida). Cuando la HbA se encuentra expuesta a glucosa plasmática, ésta se convierte en HbA1 mediante mecanismos de glicación. Al realizar la separación de la HbA1 por métodos cromatográficos identifican diferentes fracciones HbA1a, HbA1b, y HbA1c siendo esta última el principal componente (aproximadamente el 80 % de la HbA1).

La concentración de HbA1c refleja la glucemia media del individuo en los tres meses previos a la toma de muestra. Los niveles normales de glucosa producen una cantidad normal de HbA1c, mientras que un incremento de la glucosa plasmática produce un incremento de la HbA1c de manera proporcional. Esto es funcional para indicar que los niveles de azúcar en la sangre van en aumento y que se deben tomar medidas.

La ADA ha definido tres puntos de corte para la HbA1c: $\leq 5,6\%$ nivel no diabético; entre 5,7% y 6,4% nivel prediabético; y $\geq 6,5\%$ diagnóstico de diabetes. Igualmente, la ADA mantiene como la meta en el tratamiento del paciente diabético un nivel de HbA1c $\leq 7\%$.

En la diabetes mellitus, las cantidades mayores de hemoglobina glicada es un indicativo de que existe poco control en los niveles de glucosa en la sangre, lo cual, se ha relacionado con enfermedades cardiovasculares, nefropatía, neuropatía y retinopatía etc.

[PRINCIPIO]

La prueba rápida HEMOGLINET es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral. Sobre la membrana de nitrocelulosa se absorben anticuerpos de captura anti-Hb (línea de prueba), así como un anticuerpo anti-ratón (línea control), siendo este último usado como un control de calidad de la prueba. En la almohadilla de conjugado se localizan anticuerpos de detección anti-Hb. Una vez que la muestra es colocada sobre la ventanilla de muestra, ésta migra por acción de capilaridad sobre la almohadilla de conjugado. Si la muestra contiene HbA1c, éstos serán reconocidos por los anticuerpos de detección conjugados formando un complejo que a su vez migra hacia la membrana de nitrocelulosa, sobre ésta, el inmunocomplejo será reconocido por los anticuerpos de captura, lo cual resulta en una coloración rojiza sobre la línea de prueba. Si la muestra no contiene HbA1c, o su concentración es menor al valor límite de detección, no aparecerá la línea de color en la región de la línea de prueba. Como control de calidad de la prueba, la línea control siempre deberá aparecer, lo cual se debe a la interacción del anticuerpo de detección conjugado con oro coloidal y reconocido por el anti-ratón. De no presentarse la línea control, el resultado de la prueba no es válido y la muestra deberá ser reanalizada.

[PRECAUCIONES]

Para uso profesional de diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.

- No comer, beber o fumar en el área donde se manejan las muestras o las pruebas.
- Leer la ficha técnica antes de usar la prueba
- No utilice la prueba si el paquete está dañado.
- Manipular todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra riesgos microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de los especímenes.
- Use ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se están probando.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las normativas locales

[ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD]

- La prueba deberá ser almacenada cerrada en un rango de temperatura de 2-30°C.
- Si se almacena de 2-8°C, la prueba deberá ser llevada a temperatura ambiente antes de usarla.
- La prueba es estable hasta su fecha de vencimiento impresa en el paquete. No congelar o exponer a más de 30°C.

[RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO]

La prueba rápida HEMOGLINET se puede realizar utilizando muestra de sangre (venopunción o capilar)

Para recolectar muestras de sangre por punción capilar:

1. Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón. Permita que se seque.
2. Masajea la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hacia la yema del dedo anular o medio.

3. Perforar la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera señal de sangre.
4. Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma de los dedos para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
5. Añadir la muestra de sangre
 - a. Mediante el uso de un gotero:
 - Presionar el bulbo del gotero y coloque el extremo inferior sobre la gota de muestra, soltar el bulbo para recolectar la muestra. Evitar burbujas de aire.
 - A continuación, presionar el bulbo para dispensar la sangre en la zona de muestra del casete de prueba.
 - b. Mediante goteo de dedo:
 - Colocar las gotas de sangre en la zona de muestra del casete de prueba

Para recolectar muestras de sangre por Venopunción:

1. Tomar la muestra en base a los criterios establecidos.
2. Separar el suero o plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Sólo muestras claras, no hemolizadas se pueden utilizar.
3. La prueba debe realizarse inmediatamente después de la recogida de muestras.
4. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados.

[MATERIALES]

Materiales provistos

- Casete de prueba
- Gotero
- Vial con solución de corrimiento (Buffer)
- Tubo capilar
- Lanceta (punción capilar)
- Almohadilla con alcohol
- Tarjeta de colores para interpretación de resultados
- Ficha técnica

Materiales requeridos, pero no proporcionados

- Temporizador

Materiales opcionales,

- Tubo Vacutainer para toma de muestra por venopunción

[INSTRUCCIONES DE USO]

1. Llevar la prueba, la muestra y el buffer a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de su uso.
2. Abrir el empaque y sacar todos los componentes necesarios para la prueba.

Por punción capilar:

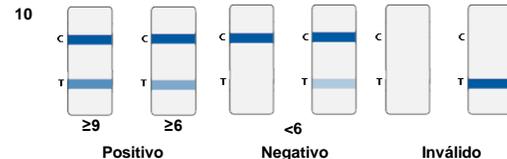
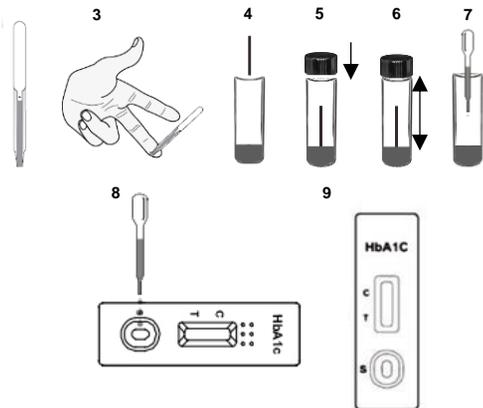
3. Limpiar el dedo a sangrar con alcohol. Destapar la lanceta y picar el dedo. Inmediatamente llenar el tubo capilar colocándolo sobre la gota de sangre formada
4. Colocar el capilar en el vial que contiene la solución de buffer.

Por venopunción

3. Llevar a temperatura ambiente la muestra. Homogenizar suavemente. Con una micropipeta tomar 10 µl de sangre.
4. Depositar la sangre en el vial que contiene la solución de buffer.

Procesamiento de la muestra:

5. Cerrar el tubo
6. Agitar vigorosamente a mano por aprox. 20 segundos, con la finalidad de que se mezclen bien la solución con la muestra y que los eritrocitos se lisen.
7. Permitir que la muestra diluida repose por 1 minuto aproximadamente posteriormente destapar el tubo y tomar la muestra diluida con el gotero
8. Transferir 3 gotas (120 µl aproximadamente) de la muestra diluida en la ventanilla de muestra de la prueba.
9. Active el cronometro. El resultado debe ser leído a los 10 minutos. No interprete resultados después de los 20 minutos.
10. Espere que aparezcan las líneas coloreadas. Interpretar los resultados comparando la intensidad de la línea de prueba con la tarjeta de color.



[INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS]

(Refiera por favor al ejemplo de arriba)

POSITIVO: * Aparecen dos líneas. Una línea coloreada debe aparecer en la zona de la línea de control (C) y otra línea coloreada de menor intensidad debe aparecer en la zona de la línea de prueba. (T).

* **NOTA:** La intensidad del color en la zona de la línea de prueba podría variar dependiendo de la concentración de HbA1c presente en la muestra. Lea los resultados positivos con la ayuda de la tarjeta de colores. Use la tarjeta de colores como referencia para confirmar la concentración de HbA1c en toda la muestra de sangre.

NEGATIVO: Una línea coloreada aparece en la zona de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la zona de la línea de prueba (T), o la línea de prueba es más tenue que la línea de referencia, representando el 6% en la tarjeta de colores. Esto indica que la HbA1c está en un nivel saludable.

INVALIDO: La línea de control no aparece. El volumen de muestra fue insuficiente o la técnica de ejecución fue incorrecta. Revise el procedimiento y realice nuevamente la prueba.

[CONTROL DE CALIDAD]

Control interno: visualización de la línea control, es considerada el control interno. Esto confirma que la prueba ha sido realizada correctamente. En caso contrario (la no visualización de la línea control), se deberá revisar el procedimiento (volumen de muestra, condiciones, etc.) y repetir el ensayo.

Control externo: como buenas prácticas de laboratorio, se recomienda el uso de controles positivos y negativos (no suministrados) para confirmar los resultados de las pruebas.

[LIMITACIONES]

1. La prueba rápida HEMOGLINET es solo para uso diagnóstico in vitro
2. La prueba rápida HEMOGLINET, solo suministrará una evaluación semicuantitativa de HbA1c en la muestra que sea menor de 6%, o mayor que 9% y no debe ser usada como un criterio único para evaluar la diabetes.
3. Como con todas las pruebas diagnósticas, solo un médico podrá confirmar un diagnóstico después de que todos resultados clínicos y de laboratorio hayan sido evaluados.
4. La prueba rápida HEMOGLINET está diseñada para trabajar con niveles hematocritos entre 25% y 65%. La realización de esta prueba con un nivel hematocrito diferente puede conducir a resultados erróneos
5. Los resultados deberán ser interpretados junto con los datos clínicos que del paciente.
6. Si el resultado de la prueba es negativo y la sintomatología persiste, se sugiere realizar pruebas adicionales de seguimiento por otro método diagnóstico.

VALORES ESPERADOS

Los valores de HbA1c esperados en un individuo sano son menor del 6%. Algunos estudios llevan este valor a 5.9%.

[CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN]

Límite de Detección

La concentración mínima positiva de HbA1c detectada por HEMOGLINET es del 6% en sangre total

Sensibilidad y Especificidad

La prueba rápida HEMOGLINET ha sido analizada con 70 muestras de pacientes positivos a HbA1c y 130 muestras de pacientes negativos a HbA1c, los cuales fueron confirmados por el método ECLIA.

	Método	ECLIA		Total
		POSITIVO (+)	NEGATIVO (-)	
HEMOGLINET	RESULTADO Positivo (+)	69	1	70
	RESULTADO Negativo (-)	1	129	130
Resultados totales		70	130	200

Sensibilidad Relativa: 86,4% (95% CI *: 78,5% ~ 92,2%)
 Especificidad Relativa: 99,0% (95% CI *: 97,7% ~ 99,7%)
 Precisión Global: 96,7% (95% CI *: 95,0% ~ 98,0%)

*Intervalo de Confianza

Precisión Intra-Ensayo

Un mismo lote fue analizado con 3 niveles de concentración: negativo o sano a HbA1c, al 6% de HbA1c y al 9% de HbA1c. Cada ensayo se realizó por 10 réplicas para cada concentración. Se obtuvo una precisión del 96.67% (83.33%-99.41%).

Inter-Ensayo

Tres lotes independientes fueron analizados en dos días diferentes con 3 niveles de concentración: negativo o sano a HbA1c, al 6% de HbA1c y al 9% de HbA1c. Cada ensayo se realizó por quintuplicado. Se obtuvo una precisión del 97.78% (89.06%-99.65%).

Reactividad cruzada

La prueba rápida Hemoglinet se ha probado con muestras positivas para anti-VIH, enfermedades pulmonares, anti-CMV, el factor reumatoide (RF), anti-VHC y muestras de niños menores de 15 años, quien se han administrado la vacuna BCG.

No se observó reactividad cruzada, lo que indica que el rendimiento de la prueba rápida de Hemoglinet es estable en presencia de estos factores.

Sustancias interferentes

Los siguientes componentes fueron añadidos a sangre total (positivos y negativos a HbA1c y no presentaron interferencia con los resultados a las concentraciones indicadas en la tabla de abajo.

Componente	Concentración
Bilirrubina total	4.67 mg/ml
Colesterol Total	163 mg/ml
Glucosa	200 mg/ml
Creatinina	3.84 mg/ml
Cafeína	20 mg/ml
Urea	100 mg/ml
Ácido Acetilsalicílico	10 mg/ml
Ácido ascórbico	10 mg/ml
Acetaminofén	10 mg/ml

La prueba rápida HEMOGLINET no presento reactividad cruzada cuando fue analizada con 10 especímenes positivos a hepatitis B, 10 positivos a hepatitis C y 10 positivos a VIH.

Los siguientes componentes fueron	Solo para uso de diagnóstico in vitro	 Usar por	 No reutilizar
 2°C - 30°C	Almacenar entre 2- 30°C	 LOT	Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado	REF	Catalogo #

[REFERENCIAS]

Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus. 2011. Abbreviated Reporto f a WHO Consultation.
Miedema K. (2005). "Standardization of HbA1c and Optimal Range of Monitoring". Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 240:61-72.
Peterson KP, Pavlovich JG, Goldsrein D, Little R, England j. Peterson CM (1998). "what is hemoglobin A1c? An análisis of glycated hemoglobins by electrospray ionization mas spectrometry". Clinical Chemistry 44 (9): 1951-58.

