Prueba rápida HEMOGLINET

(Sangre)
HEG 0122/01
REF DEMAM-001

Uso deseado

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

Resumen

La diabetes es un problema de salud mundial, la prevalencia de esta enfermedad ha venido aumentando más rápidamente en países en vías de desarrollo que en países desarrollados, es por ello que la OMS en sus intentos de mitigar el problema, ha establecido criterios para su seguimiento y prevención [1]. La HbA1c (hemoglobina glicada) es uno de los mejores marcadores para diabetes, se forma por la glicosilación de la hemoglobina, su valor representa el estado glucémico de una persona en los últimos dos o tres meses. Se mide tanto en pacientes diabéticos, prediabéticos como en aquellos con intolerancia a la glucosa para evaluar el estado glucemico [2,5]. Existen diversos métodos para la detección de HbA1c, con distintas características y oportunidades de mejora [3], se ha demostrado que los ensayos de punto de atención (prueba rápida) proporcionan resultados confiables y oportunos al médico [4] dado que la HbA1c tiene un alto valor predictivo en el diagnostico y seguimiento de la diabetes.
Según la ADA (Asociación Americana de la Diabetes) los valores de HbA1c esperados en un individuo sano son <5.7%, para un individuo con prediabetes entre 5.7% y 6.4% y con diabetes >6.5% [5].

Principio

La prueba rápida en cartucho HEMOGLINET es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral. Sobre la membrana de nitrocelulosa se imprimen anticuerpos de captura anti-HbA1c (línea de prueba), así como anticuerpos anti-ratón (línea control), siendo este último usado como control de calidad de la prueba. En la almohadilla de conjugado se localizan anticuerpos de detección anti-HbA1c. Una vez que la muestra es colocada sobre la zona de muestra (S), ésta migra por acción de capilaridad sobre la almohadilla de conjugado. Si la muestra contiene HbA1c en concentraciones detectables, será reconocida por los anticuerpos de detección conjugados, formando un inmunocomplejo 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 (T). Si la muestra no contiene HbA1c o su concentración es menor a lo detectado por la prueba, no aparecerá la línea de color en la región de la línea de prueba (T). Dependiendo la concentración de HbA1c presente en la muestra será la intensidad de la línea de prueba (T), es por ello que cualquier tonalidad debe ser comparada con la tarjeta de color provista con la prueba. Como control de calidad, la línea control (C) siempre deberá aparecer, lo cual se debe a la interacción del anticuerpo de detección conjugado con oro coloidal que al pasar por la línea control (C) es 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. Este producto se almacena en bolsa cerrada a temperatura ambiente (2-30°C).

Reactivos

La prueba contiene partículas de oro recubiertas con anticuerpos anti-HbA1c, así como anticuerpos anti-HbA1c y anti-ratón impresos en la membrana.

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 la bolsa está dañada.
- 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.
- Un cambio en el procedimiento pondrá en riesgo la veracidad de los resultados, por ello se recomienda poner especial cuidado en los tiempos marcados.

Almacenamiento y estabilidad

- Almacene la prueba en la bolsa sellada 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 la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad.
- No congele ni exponga a más de 30 °C el contenido de la prueba.

Materiales

Materiales provistos

- Cartucho de prueba
- Gotero
- Vial con solución Buffer
- Tubo capilar
- Lanceta (punción capilar)
- Almohadilla con alcohol (punción capilar)
- Tarjeta de colores para interpretación de resultados
- Manual de instrucciones

Materiales requeridos, pero no proporcionados

- Temporizador

Materiales opcionales

- Sistema Vacutainer para toma de muestra por venopunción

Instrucciones de uso

Deje que la prueba, la muestra, el buffer y/o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de la prueba. Retire el cartucho de prueba de la bolsa sellada y utilizarlo lo antes posible. Los mejores resultados se obtienen si el ensayo se realiza dentro de una hora.

1. Recolete la muestra. La prueba se puede realizar utilizando muestra de sangre (venopunción o capilar).

Por punción capilar:

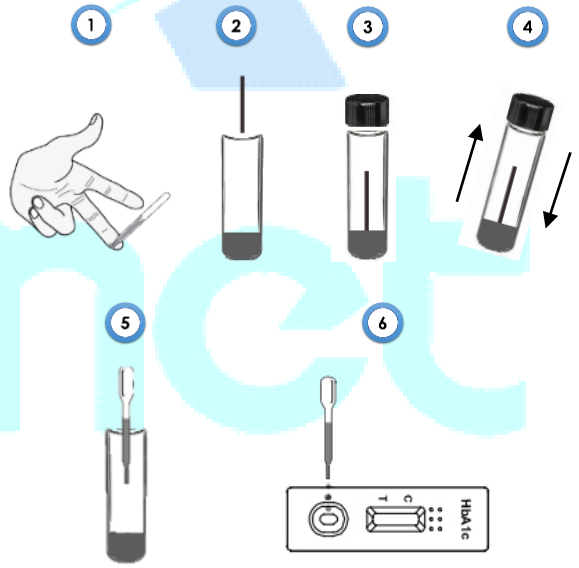
A. Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón. Permita que se seque.
B. Masajee la mano sin tocar el sitio de la punción frotando de la mano hacia la yema del dedo anular o medio.
C. Limpiar la zona de punción con alcohol.
D. Perforar la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera señal de sangre.
E. Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma de los dedos para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
F. Colocar el capilar en la gota de sangre formada, llenar todo el capilar con la muestra (aproximadamente 10 µL).

Por venopunción

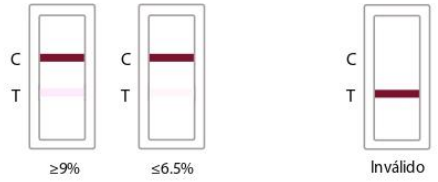
a. Tomar la muestra en base a los criterios establecidos.
b. Llevar a temperatura ambiente la muestra. Homogenizar suavemente.
c. Con una micropipeta tomar 10 µl de sangre.

Procesamiento de la muestra:

2. Punción capilar: Colocar el capilar en el vial con la solución buffer.
   Venopunción: Depositar 10 µL de la sangre en el vial con la solución buffer.
3. Cerrar el tubo.
4. Agitar vigorosamente a mano por aproximadamente 20 segundos, con la finalidad de que se mezclen bien la solución de corrimiento con la muestra y que los eritrocitos se lisen.
5. Permitir que la muestra diluida repose por 1 minuto, posterior destapar el tubo y tomar la muestra diluida con el gotero.
6. Transferir 3 gotas (120 µl aproximadamente) de la muestra diluida en la zona de muestra (S) del cartucho de prueba. Inmediatamente inicie el temporizador.
7. Espere a que aparezcan las líneas de color. El resultado debe leerse a los 10 minutos. No interpretar el resultado después de 20 minutos.



Interpretación de los resultados



(Refiera por favor a la imagen anterior)

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: la 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. 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 profesional *in vitro*.
2. La prueba rápida HEMOGLINET, solo suministrará una evaluación semicuantitativa de HbA1c en la muestra, menor de 6.5%, entre 6.5% y 9% y mayor de 9% y no debe ser usada como un criterio único para evaluar la diabetes.
3. Como con todas las pruebas de laboratorio, 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 de hematocrito entre 25% y 65%. La realización de esta prueba con un nivel hematocrito diferente puede conducir a resultados erróneos
5. Si el resultado de la prueba es negativo y la sintomatología persiste, se sugiere realizar pruebas adicionales de seguimiento por otro método.

Valores esperados

Según la ADA los valores de HbA1c esperados en un individuo sano son <5.7%, para un individuo con prediabetes entre 5.7% y 6.4% y con diabetes >6.5% [2].

Características de presentación

Límite de Detección

La concentración mínima positiva de HbA1c detectada por la prueba rápida de HEMOGLINET es 6.5 % en sangre.

Sensibilidad y Especificidad

La prueba rápida HEMOGLINET ha sido analizada con 294 muestras de pacientes diabéticos y no diabéticos, recolectadas y evaluadas según las indicaciones del manual de uso de la prueba rápida HEMOGLINET, los resultados fueron analizadas por un método CLIA para HbA1c.

Método		CLIA		Total
HEMOGLINET	RESULTADO	Positivo (+)	Negativo (-)	
	Positivo (+)	229	1	230
	Negativo (-)	1	63	64
Resultados totales		230	64	294

Sensibilidad Relativa: 99.57% (95% IC*: 95.65% - 99.91%)
Especificidad Relativa: 99.44% (95% IC*: 94.06% ~ 99.35%)
Precisión Global: 99.32% (95% IC*: 95.28% ~ 99.81%)
*Intervalo de Confianza

Precisión

Intra-Ensayo

Un mismo lote fue analizado con 3 niveles de concentración: 5% de HbA1c, 7% de HbA1c y al 10% de HbA1c. Cada ensayo se realizó con 20 réplicas para cada concentración. Las muestras fueron correctamente identificadas >99% de las veces.

Inter-Ensayo

Tres lotes independientes fueron analizados en dos días diferentes con 3 niveles de concentración: 5% de HbA1c, 7% de HbA1c y al 10% de HbA1c. Cada ensayo se realizó con 20 réplicas para cada concentración. Las muestras fueron correctamente identificadas >99% de las veces.

Reactividad cruzada

La prueba rápida HEMOGLINET se ha probado con muestras positivas a:

Antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg)
Anticuerpos anti-HCV (virus de la hepatitis C)
Anticuerpos anti-TP (Treponema pallidum/Sífilis)
Anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii (T. gondii)*
Anticuerpos IgG anti-CMV (citomegalovirus)
Anticuerpos anti-VIH
Anticuerpos anti-factor reumatoide
Anticuerpos anti-*Helicobacter pylori*
Anticuerpos IgG anti-Rubeola

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

Sustancias interferentes

Los siguientes componentes fueron añadidos a muestras de sangre a distintas concentraciones de HbA1c (5%, 7% y 10%).

Componente	Concentración
Bilirrubina	1000 mg/dL
Albumina	2000 mg/dL
Hemoglobina	1000 mg/dL
Creatina	200 mg/dL
Ácido oxálico	600 mg/dL
Cafeína	20 mg/dL
Ácido gentisico	20 mg/dL
Ácido Acetilsalicílico	20 mg/dL
Ácido ascórbico	2 g/dL
Acetaminofén	20 mg/dL

No se presentó interferencia en los resultados obtenidos con la prueba rápida HEMOGLINET, cuando se añadieron los interferentes a las concentraciones indicadas.

Referencias

[1]. Organización mundial de la salud. (10 de noviembre de 2021). Diabetes. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes

[2]. Nitin, S. (2010). HbA1c and factors other than diabetes mellitus affecting it. Singapore Med J, 51(8), 616-622.

[3]. Unger, Gisela, Ruiz, Gustavo, Milano, Pablo, Benozzi, Silvia Fabiana, & Pennacchiotti, Graciela Laura. (2014). Evaluación del desempeño analítico de tres métodos de cuantificación de hemoglobina A1c. Acta bioquímica clínica latinoamericana, 48(2), 183-189. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032529572014000200003&lng=es&tlng=es.

[4]. Alleyn CR, Laffel LM, Volkening LK, Anderson BJ, Nansel TR, Wysocki T, Weissberg-Benchell J. Comparison of longitudinal point-of-care and high-performance liquid chromatography HbA1c measurements in a multi-centre trial. Diabet Med. 2011 Dec;28(12):1525-9. doi: 10.1111/j.1464-5491.2011.03404.x. PMID: 21824185; PMCID: PMC3220776.

[5]. American Diabetes Association; Standards of Medical Care in Diabetes—2022 Abridged for Primary Care Providers. Clin Diabetes 1 January 2022; 40 (1): 10–38. https://doi.org/10.2337/cd22-as01

Índice de símbolos

	Consultar manual de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño *in vitro*	REF	Número de catálogo
2°C 30°C	Almacenar entre 2 – 30 °C	LOT	Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar