

## 1. FINALIDADE

Teste imunoturbidimétrico para doseamento da Hemoglobina Glicosilada fração A1c (HbA1c) em amostras de sangue total.

## 2. INTRODUÇÃO

A composição da Hemoglobina (Hb) no sangue de um adulto normal é de cerca de 97% de HbA, 2,5% de HbA2 e 0,5% de HbF (Hb fetal). Uma fração da HbA, a HbA1 gradativamente vai sofrendo a adição não enzimática de resíduos de açúcar aos grupamentos amino, formando a chamada hemoglobina glicosilada, sendo esta ligação estável e não reversível, acompanhando portanto o ciclo de vida médio do eritrócito (120 dias). A análise cromatográfica da HbA1 revela três subespécies, HbA1a HbA1b e HbA1c, coletivamente chamadas HbA1 ou hemoglobina glicosilada. Das 3 subespécies, a HbA1c constitui a maior fração (80%).

## 3. IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Como a formação da HbA1 é dependente da concentração de glicose no sangue durante o período de vida do eritrócito, a determinação deste parâmetro avalia indiretamente a concentração média da glicose sangüínea entre as 8-12 semanas antecedentes à coleta do exame, conforme demonstraram Abraham e colaboradores. A taxa de HbA1 no sangue não é afetada por exercícios físicos ou pela dieta, sendo assim, este parâmetro é muito valioso no controle terapêutico do tratamento do diabetes mellitus. Nos indivíduos não diabéticos, a fração HbA1c corresponde a cerca de 4-6% da HbA total, atingindo até 20% nos diabéticos não controlados. A determinação desta fração, HbA1c é considerada mais específica que a da HbA1 (total).

## 4. AMOSTRA

### a- Preparo do paciente

Apesar do jejum não ser uma condição necessária ao exame, recomenda-se que o paciente seja instruído a manter um jejum prévio de cerca de 8- 12h para evitar fenômenos como a lipemia.

### b- Tipos de amostra

Como amostra é usado o sangue total coletado com EDTA (alternativamente pode-se usar heparina na coleta).

### c- Armazenamento e estabilidade

A amostra de sangue deve ser armazenada em geladeira (2-8 °C) até o momento da análise, permanecendo assim estável por até 7 dias. Não congelar.

### d- Critérios de rejeição

Recusar as amostras mantidas fora da condição de armazenamento, que apresentem coágulos ou sinais de contaminação microbiana.

### e- Precauções e cuidados especiais

Todas as amostras devem ser manipuladas com extrema cautela, pois podem veicular diversas doenças infecto-contagiosas (hepatite, SIDA etc.). Seu descarte deve ser feito preferencialmente após sua autoclavagem devendo-se evitar sua eliminação diretamente no meio ambiente. Igual cuidado se recomenda no descarte de outros materiais como ponteiros plásticos, agulhas e seringas.

## 5. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

### a- Princípio de Técnica

De uma forma geral toda a fração de hemoglobina da amostra liga-se às partículas de látex do reagente. O anticorpo monoclonal de camundongo Anti-HbA1c presente no reagente II irá promover a formação de um complexo HbA1-c/Anti-HbA1c, que será aglutinado pelo anticorpo policlonal Anti-IgG também presente no reagente II, cuja intensidade de turvação produzida é proporcional a concentração de HbA1c na amostra.

### b- Reagentes

- **Reagente I:** Partículas de poliestireno látex a 0,13% e preservativo.

- **Reagente II-a:** Tampão 80 mmol/L em pH 7,3 e preservativo.

- **Reagente II-b:** Tampão 20 mmol/L, pH 7,1; anticorpo monoclonal de camundongo Anti-HbA1c humana e anticorpo policlonal Anti-IgG de camundongo e preservativo.

Reagente II de trabalho: misturar um frasco do reagente II-a com um frasco do reagente II-b, homogeneizar por inversão e rotular.

- **Hemolisante:** contém azida sódica como preservativo.

### c- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte o conjunto pode permanecer por até 72h em temperatura ambiente. No laboratório deve ser mantido sob refrigeração

(2-8 °C) aonde permanece estável até a data de vencimento expressa em rótulo desde que isento de contaminação química ou microbiana.

O Reagente II de trabalho é estável por até 30 dias sob refrigeração (2-8 °C) desde que isento de contaminação química ou microbiana.

### d- Precauções e cuidados especiais

- Não utilizar reagentes vencidos;
- Após abertos os reagentes podem ter sua capacidade funcional comprometida por contaminações químicas e microbianas; os sinais de deterioração dos reagentes são a presença de turvação ou precipitação;
- Os reagentes destinam-se ao uso *in vitro*, devendo-se evitar seu contato com a pele, olhos e mucosas.

## 6. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Equipamento automatizado;
- Água destilada ou deionizada com condutividade inferior a 0,5 µS/cm;
- Pipetas graduadas e micropipetador;
- Calibrador (742164);
- Controle (742163).

## 7. PROCEDIMENTO TÉCNICO

(para equipamentos manuais e semi-automáticos)

- Ajustar o comprimento de onda do equipamento para 630 nm (filtro vermelho 600-660 nm) - cubeta com 1 cm de espessura e temperatura de teste 37 °C usando água destilada ou deionizada como branco;

### 7.1 Preparo da Amostra

a- Preparar um hemolisado com o sangue do paciente pipetando em um tubo de ensaio limpo e seco 0,5 mL do reagente hemolisante e 0,01 mL do sangue do paciente, agitando fortemente por 10 segundos e aguardando 5 minutos para que se complete a hemólise (deve estar límpido). O hemolisado pode ser armazenado até 10 dias entre 2 a 8°C;

## 8. PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

- Tipo de Reação: ponto final
- Direção da Reação: crescente
- Temperatura: 37°C
- Comprimento de onda: 600 a 660nm
- Calibração: 5 pontos (ponto 0= água deionizada)

## 9. RESULTADOS

- Unidade de medida: % em HbA1c

- Valores referenciais

	Valores referenciais
Não diabéticos	4,0 - 6,0 %
Crianças (pré-púberes) c/ diabetes	< 8,0 %
Crianças (púberes) c/ diabetes	< 8,5 %
Adultos c/ diabetes	< 7,0 %
Idosos c/ diabetes	< 8,0 %

## 10. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- **Linearidade:** valores entre 2 -16 %, após o que recomenda-se a diluição da amostra com solução salina na proporção 1:4 (multiplicando-se o resultado final pelo fator de diluição).
- A dieta do paciente não interfere nos resultados;
- Resultados anômalos podem ser verificados em pacientes com uso opíáceos, etanol, intoxicação por chumbo e pacientes com uso de altas doses de ácido acetil-salicílico;
- Não é esperada interferência de bilirrubina até 50 mg/dL, ácido ascórbico até 50 mg/dL e triglicérides até 2000mg/dL;
- Altas quantidades de hemoglobina fetal induzem redução nos valores de HbA1c;
- Este teste é recomendado para controle do diabetes mellitus, não podendo ser usado como prova com fins de diagnóstico;
- Para maiores detalhes recomenda-se a leitura dos textos de Tietz e Young.



## Hemoglobina Glicosilada fração A1c (HbA1c)

# TurbiClin

### 11. CONTROLE DA QUALIDADE

#### - Materiais necessários

Amostras de controle originárias de pool de soros preparados pelo próprio laboratório e/ou controles de origem comercial, mapas e gráficos de controle. No Brasil estão disponíveis programas externos de controle de qualidade promovidos pela SBAC (Sociedade Brasileira de Análises Clínicas) e SBPC (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica).

#### - Periodicidade

Ao iniciar o trabalho com um novo lote de reagentes recomenda-se testar os mesmos quanto a precisão e exatidão. Durante a execução da rotina, recomenda-se testar uma amostra de controle junto com cada bateria de testes.

#### - Interpretação e avaliação

Como o objetivo do controle de qualidade é garantir que os resultados liberados sejam compatíveis com a realidade do paciente, o laboratório deve definir quais são os parâmetros de controle adotados bem como as medidas para possíveis ações corretivas.

### 12. ESTATÍSTICAS DO MÉTODO

A precisão foi estabelecida através do doseamento de 2 amostras de sangue com médias 4,5 e 13,2 U/L, obtendo-se coeficientes de variação 1,38 e 1,62 % respectivamente.

A exatidão foi determinada pela análise de regressão linear de 20 amostras de sangue com faixa de variação entre 6 e 12 % contra um método de referência, obtendo-se um coeficiente de correlação 0,985 e a equação:

$$Y(LB) = 1,075 \times (\text{referência}) - 1,9953$$

### 13. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece o disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- que os materiais estejam sendo armazenados em condições adequadas;
- que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos junto ao site [www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br). Em caso de dúvidas ou outras informações, contatar o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-410027 ou pelo e-mail [sac@laborclin.com.br](mailto:sac@laborclin.com.br). Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

### 14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Trivelli, L.A. et al. New Engl. J. Med. 284:353, 1971.
2. Gonen, E.; Rubenstein, A.H. Diabetologia 15:1, 1978.
3. Gabbay, K.H. et al. J. Clin. Endocrinol. Metab. 44:859, 1977.
4. Abraham, E.C. et al. Diabetes 27:931, 1978.
- 5- Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th edition. AACC Press. 1995.
- 6- Young, D.S. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd edition. AACC Press. 1997.
- 7- Tietz, N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd edition. 1995.
- 8- Burtis, C.A., Ashwood, E.R. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 4th edition. 1996
- 9- Burtis, C.A., Ashwood, E.R. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2nd edition. 1994.
- 10- Nathan, D.M. et al. The clinical information value of glycosilated hemoglobin assay; N. Engl. J. Med., 310, 341-346, 1984.

### 15. INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

- Os protocolos de programação para equipamentos automáticos estão disponíveis em [www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br), no link downloads.

### 16. APRESENTAÇÃO

742162 - kit contendo 30 mL de R1 + 9,5 mL de R2A + 0,5 mL de R2B + 125 mL de hemolisante

### 17. REGISTRO NA ANVISA: 100.970.10155

Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda  
CNPJ 76.619.113/0001-31 Insc. Estadual 1370012926  
R.Cassemiro de Abreu, 521 - Pinhais/PR CEP 83.321-210  
Telefone 041 36619000- [www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br)

Serviço de Assessoria ao Cliente  
SAC 0800-410027  
[sac@laborclin.com.br](mailto:sac@laborclin.com.br)

LB 172151 Rev 01 - 10/09  
Responsável técnico:  
Elisa Hizuru Uemura - CRFPR 4311