



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Dez/24)

GLICO-TECK® GLICOHEMOGLOBINA

Método de troca iônica em tubos.

FINALIDADE

Glico-Teck® Glicohemoglobina é um método que se destina à determinação da glicohemoglobina no sangue humano. Exclusivo para uso em diagnóstico “*in vitro*”.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Glico-Teck Glicohemoglobina baseia-se em princípio inédito na literatura internacional. Segundo este princípio, a determinação do percentual de glicohemoglobina no sangue é feita através da troca catiônica em tubos, **sem a necessidade do uso de padrões secundários internos**. Baseia-se em dois tubos, um contendo uma suspensão de resina de troca catiônica fraca capaz de ligar todas as frações da hemoglobina exceto as frações glicadas e outro contendo a mesma resina na mesma concentração mas em condições não ligantes de nenhuma das frações. Após adição de um hemolisado ao primeiro tubo e separação mecânica das frações ligadas e não ligadas, estas últimas contidas no sobrenadante, procede-se à leitura espectrofotométrica desta fração, em 415 nm, que corresponderá à glicohemoglobina. Devido às condições não ligantes da resina, a adição do hemolisado ao segundo tubo fornecerá, após as mesmas operações, uma leitura espectrofotométrica que corresponderá à hemoglobina total. A relação entre as duas leituras fornecerá o percentual de glicohemoglobina na amostra. O hemolisante empregado contém concentrações elevadas de íons borato, visando a eliminação rápida da fração lábil da glicohemoglobina (aldimina).

SIGNIFICADO CLÍNICO

A hemoglobina glicada (Hb-G) resulta da fixação não enzimática da glicose ao aminoácido valina terminal da cadeia beta da hemoglobina. Em adultos normais temos 97-98% de Hb-A, 2,5% de Hb-A2 e 0,5% de Hb-F. Através de análise cromatográfica da Hb-A identifica-se uma variedade de outras hemoglobinas: HbA1A, HbA1B e HbA1C. A fração de HbA1C corresponde à hemoglobina glicada (Hb-G) propriamente dita, em que a valina terminal da cadeia beta está ligada à glicose através de uma ligação estável e irreversível. Sua concentração reflete a média ponderada dos níveis glicêmicos de 60 a 90 dias antes do exame. A formação da Hb-G é irreversível e ocorre muito lentamente durante toda a sobrevida das hemácias (120 dias). A intensidade de glicação depende diretamente do valor da glicemia, do tempo de exposição das hemácias à glicose e também varia de paciente para paciente. A dosagem da Hb-G serve para avaliar o nível de controle da glicemia nos pacientes diabéticos. Deste modo, a dosagem da Hb-G é frequentemente utilizada para monitorar a eficácia da terapêutica aplicada aos diabéticos, bem como para verificar a adaptação do paciente à terapia proposta. Em pacientes diabéticos em estado de descontrole metabólico submetidos a tratamento e que passam a ter níveis adequados de glicemia, observa-se uma redução progressiva da Hb-G, que atinge um ponto de equilíbrio depois de 6 a 8 semanas. Assim, é correto dizer que uma dosagem da Hb-G reflete os níveis glicêmicos da sexta ou oitava semana precedente ao teste. Estudos do DCCT (Diabetes Control and Clinical Trial) demonstraram que a morbidade ou mortalidade de pacientes diabéticos diminui quando

há um controle adequado da glicemia e que a dosagem da Hb-G é muito importante para informar o estado desse controle.

REAGENTES

Apresentação com 50 tubos de 2,5 mL cada:

- 1. Resina LIGANTE:** 25 tubos (**TAMPA VERMELHA**) contendo cada um 2,50mL de suspensão de resina de troca catiônica fraca, em tampão pH 7,00, ácido bórico 150 mmol/L e azida sódica 0,1 g/dL. Conservar entre 15 - 25°C.
- 2. Resina NÃO-LIGANTE:** 25 tubos (**TAMPA CINZA**) contendo cada um 2,50 mL de suspensão de resina de troca catiônica fraca, em tampão pH 8,50 e azida sódica 0,1 g/dL. Conservar entre 15 - 25°C.
- 3. Hemolisante:** 01 frasco com 14 mL de solução hemolisante em tampão pH 6,90, ácido bórico 1 mol/L, detergente não iônico 0,25%, **cianeto de potássio 12 mmol/L** e azida sódica 0,1 g/dL. Conservar entre 15 - 25°C.

Nota: manipular com cuidado. Veneno. Não pipetar com a boca.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro
Centrífuga
Cronômetro
Vidraria
Pipetas manuais ou automáticas
Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

- 1.As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.
- 2.Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- 3.Todos os reagentes devem ser transportados e armazenados na temperatura ambiente, na faixa de 15-25°C.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- 1.Somente para uso diagnóstico “*in vitro*”.
- 2.Os reagentes contêm azida sódica, irritante para a pele e mucosas.
- 3.**O Hemolisante contém cianeto de potássio.** Não misturar com ácidos, principalmente ácido sulfúrico, pois pode haver produção de gás cianídrico. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato. Caso haja contato com quaisquer desses reagentes, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão.
- 4.Não dispensar em tubulação contendo ferro galvanizado. Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle ou reagente a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
- 5.Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
- 6.O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, serem calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- 7.**Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes. Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilize reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.**
- 8.O desempenho do ensaio pode ser afetado se este reagente for modificado ou não for armazenado nas condições recomendadas.
- 9.Ver cuidados no armazenamento e transporte dos reagentes.
- 10.Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
- 11.Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes.
- 12.Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
- 13.As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.
- 14.Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
- 15.Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Sangue total colhido com anticoagulante EDTA.

Sob refrigeração (2-8°C), a glicohemoglobina no sangue total é estável 5 dias. Caso não seja possível a determinação no mesmo dia da coleta da amostra deve-se guardar o sangue total ao invés do hemolisado (**ver Procedimento**). O armazenamento a -20°C, por longos períodos de tempo, ocasiona o aumento da HbA1a+b e, portanto, não é recomendável.

PROCEDIMENTO

Os reagentes estão prontos para uso.

Dosagem:

Observação: O método não sofre influência da temperatura na faixa de 10-30°C.

Preparo do hemolisado: Adicionar **0,05 mL** de sangue total, homogeneizado, a **0,5 mL** de **Hemolisante** em tubo de ensaio 12x75 mm. Homogeneizar bem e aguardar 5 minutos na temperatura ambiente. Se a hemólise for incompleta, centrifugar a 3.000 rpm por 5 minutos e usar o sobrenadante. Homogeneizar por inversão (**antes de adicionar o hemolisado**) um tubo com **tampa vermelha** contendo a **Resina ligante** e, em seguida, adicionar **0,1 mL** do hemolisado usando pipeta calibrada. Lavar a ponteira da pipeta na resina três vezes. Recolocar a tampa e homogeneizar por inversão (três vezes). Este tubo, contendo a **resina ligante**, deixará a glicohemoglobina no sobrenadante. **Rotular como A1.** Homogeneizar por inversão (**antes de adicionar o hemolisado**) um tubo com **tampa cinza** contendo a **Resina não-ligante** e, em seguida adicionar **0,02 mL** do hemolisado usando pipeta calibrada. Lavar a ponteira da pipeta na resina três vezes. Recolocar a tampa e homogeneizar por inversão (três vezes). Este tubo, contendo a **resina não ligante**, deixará o total de hemoglobina no sobrenadante. **Rotular como A2.**

ATENÇÃO: Se após a homogeneização dos tubos contendo a Resina Ligante, (tampa vermelha) estes não receberem o hemolisado em no máximo dois minutos, os tubos deverão ser re-homogeneizados antes da adição do hemolisado. A seguir, retirar a tampa e prosseguir como descrito no quadro de procedimento. A inobservância deste cuidado pode levar a resultados não reprodutíveis. Estes cuidados não são necessários para a Resina Não Ligante (tampa cinza).

A seguir, homogeneizar por inversão, ambos os tubos, durante 5 minutos. Estas homogeneizações não necessitam ser contínuas: é suficiente homogeneizar durante 10 segundos a cada minuto. Alternativamente, os tubos poderão ser homogeneizados em misturadores hemabiológicos. O tempo de 5 minutos representa o tempo mínimo; tempos maiores não interferem. Centrifugar de 3 a 5 minutos a 3.000 rpm. Retirar os tubos da centrífuga com cuidado para não ressuspender a resina. Alternativamente à etapa de centrifugação, os tubos poderão ser deixados em repouso durante 20 minutos. Aspirar ou pipetar, usando pipeta automática, 1 mL do sobrenadante dos tubos A1 e A2 diretamente para a cubeta do espectrofotômetro e determinar suas absorbâncias em 415 nm, acertando o zero com água destilada.

Para equipamentos que necessitem volumes de leitura acima de 1 mL, tomar 1 mL do sobrenadante de cada tubo e adicionar 1 mL de água destilada. Os cálculos a seguir não se alteram mesmo quando houver necessidade desta diluição.

CÁLCULOS

% de Glicohemoglobina = (Absorbância A1 ÷ Absorbância A2) x Fator*

* O Fator deve ser determinado utilizando o Calibrador Glico-Teck Katal.

Exemplo:

A1 = 0,290 A2 = 0,800 Fator: 14

% de Glicohemoglobina = (0,290 ÷ 0,800) x 14 = 5 %

VALORES DE REFERÊNCIA

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de referência na sua população atendida. Os valores abaixo são fornecidos como orientação.

Entre 5 e 7%: Indivíduos sadios ou com diabetes bem controlado. Nesta faixa poderão ser encontrados indivíduos com glicose de jejum com alguma alteração, mas sem desequilíbrio metabólico.

Entre 7 e 8%: Indivíduos intolerantes. Nesta faixa são encontrados indivíduos com glicemia de jejum alterada ou mesmo normal, mas com curva de tolerância diminuída.

Acima de 8%: Diabetes descontrolado, com desequilíbrio metabólico.

LINEARIDADE

O método é linear entre 2,0 e 20%.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 100%

Exatidão: O método detecta o conjunto das glicohemoglobinas presentes no sangue, a chamada "fração rápida" da hemoglobina (A1a + A1b + A1c). A comparação com método de referência, que utiliza a metodologia da troca iônica em sistema de HPLC, mostrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,950 a partir de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $Y = 0,561X + 4,53$, que demonstra uma exatidão de 95%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	6,5
Desvio Padrão	0,15
Coefficiente de Variação (%)	2,33

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	6,5
Desvio Padrão	0,19
Coefficiente de Variação (%)	2,95

Sensibilidade analítica: o método detecta com segurança valores de glicohemoglobina até 1%.

CONTROLE DA QUALIDADE

Existem controles liofilizados que podem ser utilizados como controle de reprodutibilidade das análises. Alternativamente, o laboratório pode desenvolver um controle caseiro, que consiste na separação de amostra da rotina, conservá-la sob refrigeração e dosá-la periodicamente, tendo o cuidado de substituí-la a cada 2 dias.

INTERFERENTES

Anticoagulantes: Heparina, Citrato, Fluoreto e Oxalato não devem ser utilizados, pois interferem na dosagem.

Interferência clínica: Ictericia > 50 mg/dL

Lipemia > 2000 mg/dL

Ácido ascórbico > 50 mg/dL

Hemoglobina carbamida > 7,5 mmol/L

Hemoglobina acetilada > 5,0 mmol/L

Nota: Resultados inconsistentes podem ocorrer em pacientes nas seguintes condições:

- Uso de opiáceos, envenenamento por chumbo, alcoolismo e ingestão de elevadas quantidades de ácido acetilsalicílico.

- Níveis elevados de Hemoglobina Fetal (HbF) podem levar a resultados diminuídos de HbA1c.

- As variantes, hemoglobina S (HbS) e hemoglobina A2 (HbA2) não são detectadas neste imunoenensaio, podendo aumentar a inexactidão dos resultados.

Intermediários lábeis da hemoglobina glicosilada (base de Schiff) não são detectadas e não interferem com a determinação da HbA1c neste imunoenensaio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Goldstein, D.E, Little, R.R et al. Clin. Chem. 32/10B :B64, 1986.

2. Rosenthal, P.K., Vasquez, D.A & Seckinger, D.L. Am.J.Clin.Pathol. 75:45, 1981

3. Trivelli, L.A., Ranney, H.A. & Lai, H.T. New.Engl.J.Med. 284:353, 1971.

4. Koenig R.J. et al : New Engl. J. Med. 295 : 417, 1976

5. Rahbar S.: Clin. Chim. Acta 22:296, 1968

6. http://www.diabetes.org.br/attachments/502_posicionamentos_SBD_3_jan09.pdf

7. Katal : Dados de arquivo.

APRESENTAÇÃO

50 tubos com 2,5 ml cada	Volume
1. Resina Ligante	25 x 2,5 mL
2. Resina Não-Ligante	25 x 2,5 mL
3. Hemolisante	1 x 14 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

1. A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.

2. As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.

3. Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407

e-mail: sac@katal.com.br



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG - Brasil - CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga - CRBio 076936/04-D

ANVISA: 10377390083

Data da última revisão: 11/12/2024

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico "In Vitro"
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote

