

## Instruções de Uso



# Glicohemoglobina Cepa — Colorimétrica / Resina de troca Catiônica

### Método

Cromatografia de troca iônica

### Finalidade

Kit para determinação da hemoglobina glicada em amostras de sangue (HbA<sub>1c</sub>).

### Princípio do método

A determinação quantitativa da hemoglobina glicada é realizada a partir do hemolisado da amostra, onde é eliminada a fração lâbil. O hemolisado é transferido para a coluna de resina de troca catiônica, onde ocorrem interações entre as cargas de resina e as cargas das moléculas de hemoglobina; sendo as cargas das moléculas HbA<sub>1c</sub> menores, estas não se ligam à resina, passando especificamente para o eluato, onde é realizada a determinação quantitativa da HbA<sub>1c</sub> através da medida espectrofotométrica da absorbância em 415 nm.

### Reagentes fornecidos

1. Hemolisante: Biftalato de potássio 50 mmol/L, detergente, pH 5,0 (1 x 7 mL).
2. Tampão: Tampão fosfato 48 mol/L, pH 6,5, azida sódica 0,95 g/dL (1 x 60 mL).
3. Reagente de Cor: Tampão fosfato 72 mmol/L, pH 6,4, azida sódica 0,95 g/L (2 x 225 mL)
4. Microcolunas: Contém resina de troca catiônica equilibrada (25 unidades)

### Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos na faixa de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz.

### Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria
- Cronômetro
- Espectrofotômetro
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis
- Vidraria

### Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

### Amostra biológica

- Sangue total colhido com heparina ou EDTA

Sob refrigeração, a hemoglobina glicada no sangue total é estável durante 7 dias. Caso não seja possível a determinação no mesmo dia da coleta da amostra, aconselha-se guardar o sangue total ao invés do eluato.

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de esgoto.

### Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula.

#### Preparo dos reagentes:

Os reagentes encontram-se prontos para uso.

*Obs.: A armazenagem prolongada das colunas pode ocasionar uma excessiva compactação da resina, o que diminui o fluxo. Para evitar esta interferência, colocar a coluna em posição invertida por aproximadamente 10 minutos. Após este período, retorná-la à posição original e aguardar a sedimentação da resina antes de abaixar o disco superior.*

#### Dosagem:

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
2. Pipetar em tubo de ensaio como a seguir:

Sangue	50 µL
Hemolisante	200 µL

3. Agitar e deixar à temperatura ambiente durante 10-15 minutos. O hemolisado será utilizado nas etapas 5 e 10.

#### Preparo da Coluna:

4. Destampar a parte superior da coluna de troca catiônica; retirar em seguida o tampão inferior e pressionar, com o auxílio da extremidade de uma pipeta, o disco superior até o nível da resina, evitando comprimí-la. Deixar gotejar até que o líquido alcance o nível do disco, descartando o eluato.

#### Separação e leitura da HbA<sub>1c</sub>

5. Aplicar cuidadosamente sobre o disco superior:

Hemolisado	50 µL	Descartar o
Eluato		

6. Quando todo o hemolisado for absorvido, adicionar, procurando arrastar os possíveis restos dos mesmos:

Tampão	200 µL	Descartar o
Eluato		

Deixar gotejar até que o tampão alcance o disco superior

7. Pipetar:

Tampão	2,0 mL	Descartar o
Eluato		

8. Colocar a coluna sobre um tubo de ensaio e adicionar:

Reagente de Cor (HbA <sub>1c</sub> )	4,0 mL	Recolher Eluato
---	--------	-----------------

9. Agitar bem e ler a absorbância da fração HbA<sub>1c</sub> a 415 nm contra água destilada.

Leitura da Hb Total A cor é estável por 60 minutos.

10. Pipetar em um tubo de ensaio

Reagente de Cor	12 mL
Hemolisado	50 µL

Agitar bem e ler a absorbância da Hb Total a 415 nm contra água destilada. A cor é estável por 60 minutos.

Obs.: A ocasional presença de bolhas não afeta a determinação.

### Cálculos

$$(\text{Hemoglobina Glicada}) = \frac{(\text{Abs. HbA1c})}{(3 \times \text{Abs. Hb Total})} \times 100$$

**Temperatura de trabalho:** 21-26 °C. Se a temperatura de trabalho for superior ou inferior, multiplicar o valor obtido pelo correspondente, segundo a tabela abaixo:

Temperatura de ensaio	Fator de correção
18-20°C	1,15
27-30°C	0,90

### Linearidade

O método é linear na faixa de 17%

### Valores de Referência

- 4,2 – 6,2 %\*

\*Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência.

### Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

### Interferentes

A presença da hemoglobina E leva a resultados falsamente elevados. A presença das hemoglobinas E e C leva a resultados falsamente diminuídos.

### Referências Bibliográficas

1. DOUMAS, B.T., Watson, W.A. & Biggs, H.G. Clin. Chim. Acta 31:87, 1971
2. GASBARRO, et.al. Clin. Chim. Acta 36:255, 1972
3. BARTHOLOMEW, R.J. & Delaney A.M. Proc. Austral. Assoc. Clin. Biochem. 1:214, 1966

### Apresentação

Número de testes: 25

### Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120

Resp. Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

(31) 3394-9005 (Ramal: 211)

[sac@mbiolog.com.br](mailto:sac@mbiolog.com.br)

Rev.: 05/05