

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.016- Página 07/08	
Título do Documento	POP de HEMOGLOBINA GLICADA – MÉTODO HbA1C	Emissão: 12/11/2021	Próxima revisão: 11/2023
		Versão: 01	

1. OBJETIVO(S)

Estabelecer procedimentos realizados para o processamento das amostras biológicas utilizadas na determinação da Hemoglobina Glicada por Metodologia HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) por troca iônica, fornecendo instruções claras sobre os diferentes testes nos exames laboratoriais.

2. MATERIAL

Componentes do Kit

Componente	Quantidade	Função	Temperatura
Buffer 1	2	Fase Móvel	15-30°C
Buffer 2	1	Fase Móvel	15-30°C
Wash	1	Diluyente	15-30°C
Primers	4	Ativador de Coluna	2-8°C
Calibrador 1 e 2	3	Calibração do Equipamento	2-8°C
Coluna	1	Fase Estacionária	15-30°C
Disquete	1	Informações do Kit	15-30°C
Eppendorfs	50	Diluição Amostras/Controles	15-30°C
Manuais/Bula	-	Informativo	15-30°C

Vem Separadamente

Controle 740 Níveis 1 e 2	3	Controle de Qualidade	2-8°C
---------------------------	---	-----------------------	-------

3. ABRANGÊNCIA/APLICAÇÃO

- Técnico de laboratório

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.016- Página 02/08	
Título do Documento	POP de HEMOGLOBINA GLICADA – MÉTODO HbA1C	Emissão: 12/11/2021	Próxima revisão: 11/2023
		Versão: 01	

- Farmacêutico-Bioquímico.
- Biomédico
- Biólogo
- Residentes e estagiários

4. ATIVIDADES

4.1. Descrição

A metodologia utilizada é por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) por Troca Iônica.

- a) Separação de Compostos químicos em Solução;
- b) Separação de Misturas/Distribuídos em duas fases: Móvel (buffers e solução salina) e estacionária (coluna e íons);
- c) Trabalha com pequenos volumes e pressão;
- d) Sangue (+)/ Coluna (-) se ligam, tempo de retenção;
- e) Principais componentes:
 - Bomba: movimenta fase móvel e amostra através da coluna;
 - Coluna: fase estacionária/resina;
 - Detectora: mostra os tempos de retenção das moléculas/interação amostras + fases (E+M);
 - Válvula Proporcional: envio e seleção de buffers;
 - Tempo de retenção: tempo gasto desde a injeção até a detecção na saída do sistema/ Todo tempo que o componente fica no sistema cromatográfico/Tempo das moléculas para atravessar a fase móvel e atingir o detector.

4.2. Instalação do Kit

- Inserir BUFFERS e WASH no D-10 (não lavar os pescadores/cuidado para não misturar e contaminar os componentes/perda do kit);
- Colocar COLUNA no módulo da coluna;
- Inserir DISQUETE (informa dados sobre os novos LOTES do Kit novo) e fazer UPDATE KIT: LOT INFO – UPDATE KIT – UPDATE KIT NOW. Aguardar o processamento. CONTROLE = Precisa preencher manualmente, pois não acompanha o kit. Seu pedido é feito separadamente.
- Realizar Reconstituições/Diluições:

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.016- Página 03/08	
Título do Documento	POP de HEMOGLOBINA GLICADA – MÉTODO HbA1C	Emissão: 12/11/2021	Próxima revisão: 11/2023
		Versão: 01	

Componente	Volume	Diluyente/Reconstituição	Diluição A/AD
PRIME	1 mL	Wash/ água deionizada	-
CALIBRADORES	7 mL	Diluyente próprio	-
CONTROLES	0,5 mL	Wash/ Agua deionizada	5µL/1,5mL

- Fazer SISTEM FLUSH (sempre fazer no novo kit/ preencher degasser “mangueira” com material novo);
- Inserir Primer (sangue total que ativa/condiciona a coluna) sozinho na rack/ só usa uma vez;
- Inserir Calibrador 01, Calibrador 02, Controle 01 e Controle 02 (avaliar cromatogramas);
- Calibrador só usa no dia da instalação do KIT ou em caso de necessidades específicas;
- ROTINA DE INSTALAÇÃO DO KIT: **Primer, Calibradores e Controles.**
- ROTINA NORMAL: **Apenas Controles e Amostras;**
- Controle: Início e Final de Rotina/ a cada 20 amostras passar controle (padrão internacional);
- Controle de terceira opinião: material diferente do calibrador/humano;
- Inserir ROTINA NORMAL;
- 01 mL é o mínimo de volume para se usar no D-10;
- SEMPRE AVALIAR CROMATOGRAMAS.

4.3. Manutenção Diária

- Observar o volume de **Buffers e Wash;**
- Observar Pressão Constante/ não variar mais que 5%. Se variar: pressão baixa (entrada de bolha no sistema/troca de buffers) e pressão alta (Coluna velha/entupimento).
 - Com o tempo a pressão aumenta (coluna desgastada/entupimento). Sempre guardar a última coluna/colocar data e marcação/identificação (não separar como boneco, pois a boneco passa hipoclorito);
 - Descontaminação: Utilizar coluna boneco. As resinadas podem arrastar sujeira para a detectora;
 - Olhar sempre se o Método HbA1C está correto no sistema LOT INFO.

4.4. Janelas

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.016- Página 04/08	
Título do Documento	POP de HEMOGLOBINA GLICADA – MÉTODO HbA1C	Emissão: 12/11/2021	Próxima revisão: 11/2023
		Versão: 01	

RUN

- Tela de trabalho;
- Start UP – checa todas as unidades do aparelho para fazer liberação;
- Shut Down – desliga o equipamento

DATA

- Registra todos os resultados;
- Export – Fazer backup/se não fizer, o sistema automaticamente deleta as análises mais antigas;
- Fazer backup no disquete (mensal, trimestral, anual).

RESTORE

- Acesso ao disquete;

SETTINGS

- Interfacing/sistema LIS;
- Configurações de impressão/automático –Yes/No (cliente seleciona);

MAINTAIN

- Syringe Priming – preenche seringa;
- System Flush – preenche circuito;
- Piston Flush – preenche bomba;
- Exit

4.5. Processamento de Diluição

- Sempre fazer quando necessário;
- Pode entupir a coluna caso não faça;
- Realizar para amostras insuficientes/ruins;
- Diluir 1,5mL de wash ou água deionizada para 5µL de amostra/controlado.
- Sempre colocar diluído em ependorfs/sensores.

4.6 Leitura dos Resultados

- Expressos em Cromatogramas;
- Área de 1 a 5 milhões;
- Picos de HbA1c e A₀ devidamente identificados;
- Controle de qualidade dentro dos intervalos;
- Tempo de retenção dentro dos limites;
- Referência:0,02 no eixo Y, estável, sem inclinação;
- Pico de F < ou = 10%
- Resultado de HbA1c dentro dos valores reportáveis (3,9 – 18,8 %) Linearidade;

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.016- Página 05/08	
Título do Documento	POP de HEMOGLOBINA GLICADA – MÉTODO HbA1C	Emissão: 12/11/2021	Próxima revisão: 11/2023
		Versão: 01	

- HbA1c Maior que 15 %- suspeita de variante de Hb;
- Hb > ou = 50% de área/ não reportar. Investigar;
- Pacientes homozigóticos – não apresentam A1c - HbA1c não reportável;
- Associar achados clínicos e história médica do paciente com os resultados encontrados;
- Modificar laudo de acordo com a metodologia.

4.7 Variantes das Hemoglobinas

- HbAS, HbAC, HbAD, HbA e HbAE não interferem com o teste;
- Formas homozigóticas (SS, SC, CC, por exemplo) – não é possível reportar A1C;
- HbF elevada: interfere nos resultados >10%;
- S,D-window; C-window; D,S-Window; E-Window – pedir confirmatório; sempre “sugerir”; enorme número de Hb variantes no mundo.

4.8 Valores de Referência

- Recomenda-se a American Diabetes Association (ADA);

HbA1C		Diagnóstico Sugestivo
NGSP %	IFCC mmol/mol	
≥ 6,5	≥ 4,8	Diabético
5,7 – 6,4	39-47	Pré Diabético
5,7	< 39	Não Diabético *

*Intervalo do não diabético: 4-6%

4.9 Desligamento da máquina

- Colocar em modo SLEEP;
- Shut Down;
- Não desligar no breaki/deixar carregando as baterias;
- RESET – Voltar ao normal/religar/reiniciar.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.016- Página 06/08	
Título do Documento	POP de HEMOGLOBINA GLICADA – MÉTODO HbA1C	Emissão: 12/11/2021	Próxima revisão: 11/2023
		Versão: 01	

4.10 Procedimentos Especiais Padrões

LIMPEZA/DESCONTAMINAÇÃO

- Verificar se o sistema está em modo SLEEP; Se estiver em STAND BY, mudar para SLEEP na tela RUN;
- Caso haja necessidade, colocar impressão automática em modo NO (tela SETTINGS/Print Screen);
- Remover coluna analítica e substituir por COLUNA BONECO;
- Selecionar método DECON na tela LOT INFO/ Method Screen;
- Colocar 5 tubos de ensaio com hipoclorito 2% nos adaptadores de 1 a 5 na rack e mais 5 tubos de ensaio contendo água deionizada nas posições de 6 a 10;
- Selecionar START UP na tela RUN. Uma vez terminado o START UP, inserir a rack e manualmente identificar tubo por tubo com seus respectivos componentes;
- Selecionar START UP e aguardar processamento das amostras;
- Quando terminado, o sistema entrará em STAND BY e assim passar sistema para modo SLEEP mais uma vez.
- Remover coluna BONECO e limpar local;
- Colocar novamente a coluna analítica do kit no modulo;
- Remover rack (EJECT);
- Selecionar o Method HbA1c novamente em LOT INFO - Method Screen;
- Fazer primer na coluna novamente.

4.11 LIMPEZA DA CÂMARA DE DILUIÇÃO E LAVAGEM

- Verificar se o sistema esta em modo SLEEP; se estiver em STAND BY colocar em modo SLEEP/Tela RUN;
- MAINTAIN – SERVICE SCREEN - ACCESS WASH STATION (remoção da agulha para lado esquerdo do instrumento);
- O usuário tem 5 segundos para abrir a porta/ senão abrir ela fecha e trava novamente/ agulha volta para posição inicial;
- Remover estação de lavagem – pressionar trava lateral da estação - desconectar mangueiras – suspender a estação – retirá-la;
- Colocar a câmara de diluição de molho em hipoclorito 2% por uns 10 minutos;
- Retirar do molho e lavarr com agua corrente;
- Secar completamente;
- Reinstalar a estação de lavagem e reconectar as mangueiras de acordo com as respectivas cores;

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.016- Página 07/08	
Título do Documento	POP de HEMOGLOBINA GLICADA – MÉTODO HbA1C	Emissão: 12/11/2021	Próxima revisão: 11/2023
		Versão: 01	

- Fechar a tampa;
- A agulha retornara a posição inicial

5. RECOMENDAÇÕES

Evitar utilizar reagentes contaminados e, ou vencidos. Observar sempre os volumes, as embalagens e suas respectivas temperaturas de acondicionamento.

6. REFERENCIAS

D-10 Hemoglobin A1c Program – Intruções de USO / Bio-Rad. Maio de 2017.

American Diabetes Association. Diabetes Basics.

><https://www.diabetes.org/a1c/diagnosis>> Acesso em 25 de setembro de 2021.

Araujo, M. Manual de instruções para o funcionamento do aparelho D-10 Hemoglobin A1c – Nordelab, 2021.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.016- Página 08/08	
Título do Documento	POP de HEMOGLOBINA GLICADA – MÉTODO HbA1C	Emissão: 12/11/2021	Próxima revisão: 11/2023
		Versão: 01	

7. HISTÓRICO DE REVISÃO

VERSÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO
01	12/11/2021	Realização do POP de Hemoglobina Glicada – Método HbA1C

Elaboração/Revisão: Dr ^a Heloísa Mara Batista Fernandes de Oliveira Farmacêutica-Bioquímica – HUAB/UFRN/EBSERH	Data: 12/11/2021
Validação: Membro do Setor de Vigilância em Saúde	Data:
Aprovação: Ana Cristina Santos Fernandes Pereira Chefia Imediata	Data:

CERTIDÃO

Processo nº 23527.008833/2021-18

Interessado: Setor de Vigilância em Saúde

Certidão de assinaturas eletrônicas correspondente ao documento POP.ULACC.016 POP DE HEMOGLOBINA GLICADA - MÉTODO HbA1C

Elaboração:

Nome: Heloísa Mara Batista Fernandes de Oliveira

SIAPE: 2148960

Função: Farmacêutica-Bioquímica - HUAB/UFRN/EBSEERH

Validação

Nome: João Maria Rego Mendes

SIAPE: 2247559

Função: Membro SGQVS

Aprovação

Nome: Ana Cristina Santos Fernandes Pereira

SIAPE: 2158184

Função: Chefe do Setor

Santa Cruz

Documento assinado eletronicamente



Documento assinado eletronicamente por **Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira, Farmacêutico(a)**, em 16/11/2021, às 14:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Cristina Santos Fernandes Pereira, Chefe de Unidade**, em 16/11/2021, às 16:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Maria Rêgo Mendes, Enfermeiro(a)**, em 22/11/2021, às 10:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ebserh.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **17604914** e o código CRC **3BFA1134**.
