

زیست شیمی

HbA1c (A1c)



اندازه گیری میزان HbA1c در خون تام انسانی

محاسبات:

$$\text{HbA1c (\%)} = (\text{IFCC} \times 0.09148) + 2.152$$

میانگین گلوکز تخمینی:

$$\text{eAG (mg/dl)} = [28.7 \times \text{HbA1c (\%)}] - 46.7$$

خطی بودن:

این روش تا مقدار HbA1c ۱۲٪ خطی می باشد. در مواردیکه غلظت نمونه بالاتر باشد، نتایج باید به صورت $> 12\%$ گزارش شود و از رقیق کردن نمونه پرهیز شود.

حساسیت:

حداقل مقدار قابل اندازه گیری ۳٪ می باشد.

دقت:

تکرار پذیری با استفاده از نمونه های انسانی (n=20) تعیین و نتایج زیر بدست آمد:

Intra Assay – Within run			
Sample	Mean(%)	SD(%)	CV %
Control	4.1	0.1	2.43
Control	9.5	0.3	3.15
Control	12.8	0.35	2.73

Inter Assay – Between Run			
Sample	Mean(%)	SD(%)	CV %
Control	4.0	0.15	3.75
Control	9.2	0.35	3.80
Control	12.5	0.4	3.20

مقادیر نرمال:

Goal
4-6%
Good Control
6.5-8%
Action Suggested
>8%

هر آزمایشگاه باید انطباق پذیری مقادیر مورد انتظار را با توجه به جمعیت بیمار خود بررسی کرده و الزاماً مقادیر مرجع خود را تعیین نماید. برای اهداف تشخیصی نتایج HbA1c باید همراه با تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایش های بالینی و یافته های دیگر تفسیر شود.

مقایسه روش ها:

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت HbA1c زیست شیمی (Y) با کیت رایج تجاری (X)، نتایج زیر بدست آمد:

$$Y = 1.082(X) - 0.18\% \quad r = 0.98$$

محدودیت ها - تداخل:

بیلی روبین: عدم تداخل معنی دار تا غلظت بیلی روبین ۲۰ mg/dl

لیپیمیا: عدم تداخل معنی دار تا غلظت تری گلیسرید ۱۵۰۰ mg/dl

اسید آسکوربیک: عدم تداخل معنی دار تا غلظت اسید آسکوربیک ۳۰ mg/dl

این کیت اثری بر روی کووت های دستگاه های اتوآنالیزر بیوشیمی ندارد و کووت ها بعد از انجام تست تمیز باقی می مانند.

مقدمه:

از لحاظ ساختار بیوشیمی مولکول A1c عبارت است از آمینو والین انتهایی زنجیره B مولکول هموگلوبین می باشد. قندی که در جریان خون وجود دارد تمایل به اتصال به هموگلوبین در گلبول قرمز دارد، این فرایند گلیکوزیلیشن نامیده می شود. قند متصل شده به هموگلوبین در طی مدت ۱۲۰ روز عمر گلبول قرمز همچنان باقی می ماند و این اساس آزمایش HbA1c را تشکیل می دهد. هم اکنون این آزمایش برای پایش و کنترل بیماری دیابت ملیتوس شناخته می شود. و منعکس کننده میانگین گلوکز در ۲ تا ۳ ماه گذشته در خون بیمار بوده و میزان آن با عوارض دیابت بر عروق کوچک ارتباط مستقیمی دارد. در افرادی که مبتلا به آنمی همولتیک می باشند یا با از دست دادن حجم زیادی از خون مواجه شده اند میزان HbA1c می تواند به صورت کاذب پایین باشد و در آنمی فقر آهن HbA1c می تواند به صورت کاذب افزایش یابد.

شرایط نگهداری و آماده سازی محلول ها:

محتویات کیت آماده مصرف می باشد. محتویات کیت باز نشده تا تاریخ انقضاء در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار می باشد.

نمونه و پایداری نمونه ها:

خون تام جمع آوری شده با EDTA

پایداری نمونه:
۳ روز در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد
۷ روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد

روش آماده سازی نمونه:

مقدار ۲ml از محلول همولیز کننده (R3) را با ۲۰µl از خون کامل مخلوط کنید. (خون را قبل از استفاده به خوبی مخلوط کنید).

نکته: کالیبراتور نیازی به مرحله آماده سازی فوق ندارد.

بعد از ۵ دقیقه نمونه ها را دوباره به خوبی مخلوط کنید و استفاده کنید.

جهت آماده سازی کالیبراتور و کنترل به بروشور اختصاصی آن ها مراجعه گردد.

پایداری کالیبراتور بعد از اضافه کردن آب مقطر ۷ روز در دمای ۸-۲ درجه سانتی گراد می باشد.

پس از مخلوط کردن ویال با 500 لاندا اب مقطر و گذشت (احتیاج به لایز ندارد)

20-30 دقیقه به صورت two point کالیبر کنید

احتیاج به آب مقطر به عنوان کالیبراتور اول نیست

روش انجام آزمایش:

طول موج	دما	کووت	اندازه گیری
۶۶۰ نانومتر	۳۷ درجه سانتیگراد	یک سانتیمتر	در مقابل بلانک معرف

مواد به صورت زیر به داخل لوله های آزمایش اضافه شود:		
Sample	Standard	Reagent
150 µl	150 µl	Reagent R1
---	6 µl	Standard
6 µl	---	Sample
مخلوط کرده و بعد از ۵ دقیقه جذب نوری خوانده شود (A1)		
50 µl	50 µl	Reagent R2
مخلوط کرده و بعد از ۵ دقیقه جذب نوری خوانده شود. (A2)		

