

- برای اتوآنالایزهایی که میتوانند با 2 معرف عمل کنند، محلول های R1a و R1b را به نسبت 7 به 3 مخلوط نمایید و به مدت 24 ساعت قبل از استفاده در دمای 2 تا 8 درجه سانتیگراد قرار دهید. پایداری این محلول در دمای 2 تا 8 درجه سانتیگراد به مدت 4 هفته میباشد. R2 و Lysis Buffer آماده مصرف میباشد. پس از باز شدن به مدت یک ماه به صورت On board در دمای 2 تا 8 درجه سانتیگراد پایدار میباشد.

محلول R1a: شفاف و بدون رنگ، محلول R1b: شفاف و زرد کم رنگ.

محلول R2: شفاف و زرد کم رنگ، محلول Lysis Buffer: شفاف و بدون رنگ.

• نحوه امحاء پسماند:

- معرف های باقیمانده در ویال ها، مطابق دستورالعمل های دفع پسماند میبایست با آب فراوان رقیق و سپس دفع گردند. (دستورالعمل مدیریت پسماندهای آزمایشگاهی مرجع سلامت)

• هشدار ها:

- از این کیت تنها برای مصرف در آزمایشگاه های تشخیص طبی میتوان استفاده نمود. در هنگام کار با معرف ها، از وسایل حفاظت فردی مانند: دستکش، عینک و ... استفاده شود و کلیه موارد ایمنی مطابق با دستورالعمل های ایمنی در آزمایشگاه رعایت گردد. در صورت تماس مستقیم معرف ها با دهان، دست و چشم ها، بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.

• نمونه مورد آزمایش:

خون تام جمع آوری شده با EDTA.

- پایداری نمونه ها در دمای 2 تا 8 درجه سانتیگراد به مدت 7 روز و در دمای 20- درجه سانتیگراد به مدت 14 روز میباشد. از فریز و دفریز نمودن و آلوده شدن نمونه ها جلوگیری نمایید. پیشنهاد میگردد طبق راهنمایی های CLSI، هر آزمایشگاه بر اساس منابع علمی موجود و نتایج حاصل از مطالعات خود در مورد شرایط پایداری نمونه ها تصمیم گیری نماید. توصیه میشود که نمونه های نگهداری شده در یخچال آزمایشگاه حداکثر تا 2 هفته پس از نمونه گیری مورد آزمایش قرار گیرند.

• آماده سازی نمونه مورد آزمایش:

- پیش از انجام آزمایش، جهت یکنواخت شدن گلول های قرمز ته نشین شده، باید نمونه خون تام را به آرامی و 5 مرتبه با سر و ته کردن همگن نمایید. در صورت عدم همگن شدن نمونه، صحت تست تحت تاثیر قرار میگیرد.

سپس:

- 1) 250 میکرولیتر از بافر لیز کننده (Lysis Buffer) را داخل کاپ یا لوله شیشه ای یا پلاستیکی بریزید.
- 2) 20 میکرولیتر نمونه خون تام را به آن اضافه نمایید و به آرامی با یک سمپلر مناسب بدون ایجاد کف مخلوط نمایید و به مدت 10 دقیقه در دمای 22 الی 28 درجه سانتیگراد انکوبه نمایید تا گلول های قرمز کاملاً لیز شوند. هنگامی که مخلوط به محلول قرمز رنگ تیره و شفاف بدون پارتیکل تبدیل شود، لیز کامل انجام شده است. نمونه های آماده و لیز شده به مدت 4 ساعت در دمای 20 الی 25 درجه سانتیگراد پایدار میباشد.
- 3) کالیبراتور ها و کنترل ها (در صورت لیوفیلیزه بودن، پس از آماده سازی) را میبایست مانند نمونه خون تام لیز نموده و سپس استفاده نمایید.

• موارد مورد نیازی که در کیت تعبیه نشده اند:

کنترل HbA1c Control set (Level 1&2) شرکت شیمی آنزیم درمان.

کالیبراتور HbA1c Calibrator set (Level 1&2) شرکت شیمی آنزیم درمان.

آب مقطر دوبار تقطیر یا آب دیونیزه.

تجهیزات معمول مورد استفاده در آزمایشگاه.

• نکات قابل توجه:

از این کیت فقط برای مصرف در آزمایشگاه های تشخیص طبی میتوان استفاده نمود.

قبل از انجام آزمایش دستورالعمل و توضیحات بروشور را به دقت مطالعه نمایید.

جهت انجام این آزمایش از ظروف، لوله ها و پیپت های شیشه ای تمیز و نوک سمپلر نو استفاده نمایید.

مقدار هموگلوبین توتال نمونه خون باید بین 9-21 g/dL باشد.

هموگلوبینو پاتی ها و مقادیر HbF بیش از 10 درصد در نتایج تداخل ایجاد میکنند.

• خصوصیات عملکردی کیت:

• ماکزیمم حد سنجش:

- این کیت جهت اندازه گیری HbA1c تا غلظت 16% طراحی شده است. نمونه های با غلظت بیش از 16% را نباید رقیق سازی و مجدد آزمایش نمود، بلکه باید نتیجه آزمایش به صورت >16% گزارش گردد.

• حداقل میزان قابل اندازه گیری (LOD): 4%

Ref. No.	حجم معرف R1a	حجم معرف R1b	حجم معرف R2	حجم معرف Lysis	Total Vol.	دمای نگهداری
HBAE-MPR1	1 x 18ml	1 x 7.5ml	1 x 11ml	1 x 32ml	36.5ml	2-8 °C
HBAE-MPR2	1 x 36ml	1 x 15ml	1 x 22ml	2 x 32ml	73ml	
HBAE-H912	1 x 36ml	1 x 15ml	1 x 22ml	2 x 32ml	73ml	
HBAE-H917	1 x 36ml	1 x 15ml	1 x 22ml	2 x 32ml	73ml	
HBAE-P50i	2 x 18ml	2 x 7.5ml	2 x 11ml	2 x 32ml	73ml	
HBAE-P24i	2 x 18ml	2 x 7.5ml	2 x 11ml	2 x 32ml	73ml	
HBAE-BS20	2 x 18ml	2 x 7.5ml	2 x 11ml	2 x 32ml	73ml	
HBAE-BS38	2 x 18ml	2 x 7.5ml	2 x 11ml	2 x 32ml	73ml	
HBAE-BS40	1 x 36ml	1 x 15ml	1 x 22ml	2 x 32ml	73ml	
HBAE-AD18	1 x 36ml	1 x 15ml	1 x 22ml	2 x 32ml	73ml	

• کاربرد:

جهت اندازه گیری کمی HbA1c در خون تام انسانی به روش دستی و دستگاهی.

• اهمیت بالینی:

میزان HbA1c به منظور پایش طولانی مدت میزان گلوکز در خون افراد مورد بررسی قرار میگیرد.

Glycation افزودن غیر آنزیمی قند به گروه های آمینی پروتئین است. هموگلوبین A شامل چهار زنجیره پلی پپتیدی شامل 2 زنجیره α و 2 زنجیره β است. HbA1c به وسیله اتصال گلوکز به ناحیه N ترمینال اسید آمینه والین زنجیره β HbA شکل میگیرد که در ابتدا به شکل Schiff base ناپایدار (aldimine) (pre HbA1c) است و سپس تبدیل به یک کنوآمین پایدار میشود که همان HbA1c است. این پروسه به توصیه بیوشیمیست ها Glycation و این هموگلوبین Glycated hemoglobin نامیده میشود. درصد کمی از هموگلوبین نرمال به صورت ترکیب با قند های مختلف از ناحیه N-ترمینال اسید آمینه والین زنجیره β ترکیب شده و در واقع برای بررسی وضعیت هیپرگلیسمی در طول عمر 120 روزه گلول های قرمز بکار میرود. هموگلوبین گلیکوزیله در پاسخ به افزایش قند خون افزایش یافته و نوع خاصی که منحصر به گلوکز اتصال می یابد، به نام HbA1c یعنی شاخص برتر بیماری دیابت مورد بررسی قرار میگیرد. این آزمایش اگر چه برای تشخیص دیابت شیرین مفید نمیشد، اما برای ارزیابی کنترل طولانی مدت دیابت و چگونگی روند درمان، آزمایش بسیار مفیدی است. غلظت هموگلوبین گلیکوزیله منعکس کننده میانگین غلظت گلوکز خون در طول 6 الی 8 هفته اخیر میباشد. باید توجه داشت که تشکیل هموگلوبین Glycated برگشت پذیر است و به طول عمر گلول قرمز (120 روز) و غلظت گلوکز خون بستگی دارد. مقادیر اندازه گیری شده تحت تاثیر نوسانات روزانه قند و همچنین عواملی مانند ورزش یا تغذیه اخیر نمیشد. توصیه میشود Glycated هموگلوبین در افراد دیابتیک هر 3 الی 4 ماه اندازه گیری شود. در موقعیت های کلینیکی مانند دیابت، حاملگی هر 4 هفته اندازه گیری انجام شود. در آنمی فقر آهن HbA1c به دلیل جمعیت زیاد سلول های پیر (RBC) افزایش می یابد. در دیابت کنترل نشده، نارسایی مزمن کلیه (با همودیالیز یا بدون آن)، اسپلنکتومی، مصرف الکل، افزایش تری گلیسرید سرم و مسمومیت با سرب، میزان HbA1c افزایش می یابد. در آنمی همولیتیک، وجود HbD، HbC، HbS، افسروسیتوز ارثی، خونریزی حاد یا مزمن میزان HbA1c کاهش می یابد.

• اساس روش:

در این روش اندازه گیری HbA1c به صورت مستقیم صورت میگیرد و درصد HbA1c در نمونه تعیین میشود و نیازی به اندازه گیری هموگلوبین توتال نمیشد. نمونه ها لیز میشوند و با ریجنت واکنش میدهند تا عوامل مداخله گر از بین روند. سپس خون کامل لیز شده در معرض آنزیم پروتاز قرار میگیرد، فرآیندی که اسید های آمینه را از زنجیره β هموگلوبین آزاد میکند. والین های گلیکوزی شده که در این فرآیند آزاد میشوند به عنوان سوبسترا برای آنزیم نوترکیب فروکتوزیل والین اکسیداز (FVO) عمل میکنند. FVO به طور خاص والین های انتهایی را میشکند و پراکسید هیدروژن تولید میکند و منجر به تولید پیگمان رنگی میشود که در طول موج 700 نانومتر قابل اندازه گیری بوده و شدت رنگ حاصله با مقدار HbA1c موجود در نمونه دارای نسبت مستقیم میباشد.

• شرایط نگهداری و آماده سازی معرف ها:

معرف ها آماده مصرف میباشد. قبل از استفاده محتویات هر ظرف را به آرامی مخلوط نمایید. معرف ها در دمای 2 تا 8 درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی ویال ها پایدار میباشند، مشروط بر اینکه درب ویال ها بسته و آلوده نگردند. از فریز نمودن و قرار دادن معرف ها در مقابل نور خودداری نمایید.

- برای اتوآنالایزهایی که میتوانند با 3 معرف عمل کنند، محلول های R1a، R1b و R2 و Lysis Buffer آماده مصرف میباشد.

• تبدیل واحد:

مقادیر گزارش شده توسط DCCT هم تراز شده و در فرمت NGSP گزارش میگردند. ارتباط بین نتایج HbA1c در فرمت NGSP (به صورت %HbA1c) با شبکه IFCC (به صورت mmol/mol) بر اساس فرمول زیر مشخص میگردد:

$$\text{NGSP (HbA1c (\%))} = 0.0915 \times \text{IFCC (HbA1c (mmol/mol))} + 2.15$$

$$\text{IFCC (HbA1c (mmol/mol))} = 10.93 \times \text{NGSP (HbA1c (\%))} - 23.5$$

- این محصول بر روی انواع دستگاههای اتوآنالایزر بیوشیمی قابل نصب میباشد. جهت نصب یا دریافت پارامترهای مربوطه میتوانید با بخش پشتیبانی شرکت شیمی آنزیم درمان تماس حاصل فرمایید.

• References:

- 1-Goldstein DE et al Diabetes Care 27(7): 1761-73 (2004).
- 2-United Kingdom Prospective study, Lancet 352: 837 – 53 (1998).
- 3-American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendation; standards of medical care for patients with diabetes mellitus.
- 4-NGSP <http://www.missouri.edu/~doabetes/ngsp.html>.
- 5-Hetzel W et al. IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the USA, Japan and Sweden: a method-comparison study. Clin Chem 2004; 50:166-74
- 6- Sacks, D (ed) Global Harmonization of Hemoglobin A1c. Clin Chem 51 (4): 681 – 683 (2005).

• نمادها:

نشانی محل تولید	
تاریخ تولید	
شماره کاتالوگ	
شماره رسته تولید	
تعداد/مقدار/حجم	
محدودیت دمای نگهداری	
تاریخ انقضاء	
احتیاط	
دستور العمل استفاده	
محصول تشخیص آزمایشگاهی	
حمل و نقل/جا به جایی با دقت	
نگهداری در مکان خشک	
سمت/جهت قرار دادن بسته بندی	



بازنگری: ۱۳۰۲۰۷۳۰

• دقت:

Intra Assay-Within run Direct HbA1c

Sample	n	Mean (%)	SD (%)	CV (%)
1	20	5.7	0.19	3.4
2	20	10.3	0.29	2.8

Inter Assay-Between run Direct HbA1c

Sample	n	Mean (%)	SD (%)	CV (%)
1	5	5.7	0.21	3.6
2	5	10.3	0.55	4.4

• صحت:

جهت ارزیابی صحت، از مقایسه روشها استفاده شده است. در این بررسی، این کیت با یکی از متداول ترین کیت‌های معتبر موجود مقایسه گردیده و نتایج زیر حاصل شده است:

$$r = 0.9874$$

$$Y = 1.02 + 0.0135 \%$$

• عوامل مداخله گر:

آنالیت‌های زیر تا مقادیر ذکر شده تداخلی در این آزمایش ایجاد نمیکند:

Bilirubin (Total)	Up to 15 mg/dl
Bilirubin (Conjugate)	Up to 13 mg/dl
Glucose	Up to 4000 mg/dl
Triglycerides	Up to 4000 mg/dl
Urea	Up to 80 mg/dl
Uric acid	Up to 30 mg/dl
Ascorbic acid	Up to 12 mg/dl

• مقادیر مرجع:

Normal (Non-Diabetic) نرمال (غیر دیابتی)	3.0 - 6.0% (< 6.0%)
Prediabetes (increased risk for diabetes) پیش دیابت (افزایش خطر ابتلا، به دیابت)	6.0 - 9.0%
Diabetes دیابت	> 9.0%

"توصیه میگردد که هر آزمایشگاه با توجه به اطلاعات آماری بیمارانش محدوده (دامنه) مرجع مختص به خود را تعیین نماید. برای اهداف تشخیصی نتایج این آزمایش باید با تاریخچه پزشکی بیمار، دیگر آزمایش‌ها و یافته‌ها بطور همزمان مورد بررسی قرار گیرند."

• روش آزمایش:

700 nm	طول موج
37 °C	دمای انکوباسیون
1 cm	قطر کووت

کالیبراتور / کنترل	نمونه	
180 µl	180 µl	معرف R1a
75 µl	75 µl	معرف R1b
40 µl	40 µl	نمونه/کالیبراتور / کنترل
مخلوط کرده، به مدت 4 دقیقه در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه کرده و جذب نوری A1 نمونه (A Sample) و کالیبراتور (A Calibrator) را اندازه گیری نمایید. سپس:		
110 µl	110 µl	معرف R2
مخلوط کرده، به مدت 3 دقیقه در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه کرده و جذب نوری A2 نمونه (A Sample) و کالیبراتور (A Calibrator) را اندازه گیری نمایید. $\Delta\text{Abs} = \text{A2} - \text{A1}$		

• محاسبات:

مقادیر HbA1c به صورت درصد و بر اساس نمودار کالیبراسیون گزارش میشوند. غلظت HbA1c بیمار از منحنی کالیبراسیون 2 نقطه ای (بدون نقطه صفر) و به روش Linear محاسبه میگردد.

(Reaction: End point / Calibration type: Linear 2point)