

Penentuan kuantitatif HbA_{1c} (glycated hemoglobin)

IVD

Simpan pada suhu 2 - 8°C

PRINSIP METODE

Metode ini memanfaatkan interaksi antigen dan antibodi untuk secara langsung menentukan HbA_{1c} dalam darah. Total hemoglobin dan HbA_{1c} memiliki tingkat penyerapan tidak spesifik yang sama terhadap partikel lateks. Ketika antibodi monoklonal HbA_{1c} mouse antihuman ditambahkan ke (R2), kompleks antibodi HbA_{1c}-mouse antihuman HbA_{1c} lateks terbentuk. Aglutinasi terbentuk ketika antibodi poliklonal anti-mouse IgG berinteraksi dengan antibodi monoklonal. Jumlah aglutinasi sebanding dengan jumlah HbA_{1c} yang diserap ke permukaan partikel lateks. Jumlah aglutinasi diukur sebagai absorbansi. Nilai HbA_{1c} diperoleh dari kurva kalibrasi.

SIGNIFIKANSI KLINIS

Sepanjang masa peredaran sel darah merah, Hemoglobin A_{1c} dibentuk secara terus menerus melalui adduksi glukosa ke terminal-N rantai beta hemoglobin. Proses yang bersifat non-enzimatis ini, mencerminkan rata-rata paparan hemoglobin terhadap glukosa dalam waktu yang lama. Dalam sebuah studi klasik, Trivelli et al¹ menunjukkan bahwa Hemoglobin A_{1c} pada penderita diabetes meningkat 2-3 kali lipat dibandingkan dengan kadar yang ditemukan pada individu normal. Beberapa peneliti telah merekomendasikan bahwa Hemoglobin A_{1c} berfungsi sebagai indikator kontrol metabolik penderita diabetes, karena kadar Hemoglobin A_{1c} mendekati nilai normal untuk penderita diabetes dalam kontrol metabolik.^{2,3,4}

Hemoglobin A_{1c} telah didefinisikan secara operasional sebagai hemoglobin "fraksi cepat" (HbA₁, A₁B, A₁C) yang dielus pertama kali selama kromatografi kolom dengan resin penukar kation. Hemoglobin yang tidak teraglutinasi, yang terdiri dari sebagian besar hemoglobin telah ditetapkan sebagai HbA₀. Prosedur ini menggunakan reaksi antigen dan antibodi untuk secara langsung menentukan konsentrasi HbA_{1c}.

REAGEN

R1	Latex 0,13%, Buffer, stabilizer.
R2	Mouse anti-human HbA _{1c} monoclonal antibody 0,05mg/mL, goat anti-mouse IgG polyclonal antibody 0,08mg/dL, Buffer, stabilizers.
R3 (Hemolysis Reagen)	Water and stabilizers

TINDAKAN PENCEGAHAN

Semua spesimen manusia harus dianggap berpotensi berbahaya secara biologis. Oleh karena itu, tindakan pencegahan universal harus digunakan dalam penanganan spesimen (sarung tangan, pakaian laboratorium, hindari produksi aerosol, dll).

PERSIAPAN

R1, R2 dan R3 siap digunakan. Aduk perlahan sebelum digunakan.

KALIBRASI

Kalibrasi ulang bila hasil kontrol berada di luar toleransi yang ditentukan, bila menggunakan lot reagen yang berbeda, dan bila instrumen disesuaikan.

PENYIMPANAN DAN STABILITAS

Semua komponen kit stabil hingga tanggal kedaluwarsa pada label jika disimpan dalam keadaan tertutup rapat pada suhu 2-8°C dan kontaminasi dapat dicegah selama penggunaannya. Reagen tidak boleh ditinggalkan di dalam alat analisis setelah digunakan, reagen harus disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2-8°C. Lateks dapat mengendap. Campur reagen dengan lembut sebelum digunakan. Jangan gunakan reagen melebihi tanggal kedaluwarsa. R1 dan R2 stabil setidaknya selama satu bulan setelah dibuka dan disimpan pada suhu 2-8°C. Hemoglobin A_{1c} dalam darah lengkap yang dikumpulkan dengan EDTA stabil selama satu minggu pada suhu 2-8 ° C.

TANDA-TANDA KERUSAKAN REAGEN

Perubahan penampilan fisik reagen atau nilai bahan kontrol di luar kisaran yang dapat diterima oleh produsen dapat menjadi indikasi ketidakstabilan reagen.

PERALATAN TAMBAHAN

- SPIN 800 Autoanalyzer.
- Peralatan laboratorium umum.

SAMPEL

Persiapan khusus untuk pasien tidak diperlukan. Spesimen puasa tidak diperlukan. Tidak diperlukan bahan tambahan atau pengawet khusus selain antikoagulan. Kumpulkan darah vena dengan EDTA menggunakan teknik aseptik. Untuk menentukan HbA_{1c}, hemolisis harus disiapkan untuk setiap sampel:

1. Keluarkan 1 mL Reagen Hemolisis ke dalam tabung bertabel: Kalibrator, Kontrol, Pasien, dll. Catatan: Tabung plastik atau kaca dengan ukuran yang sesuai dapat digunakan.
2. Masukkan 20 µL darah lengkap yang telah tercampur rata ke dalam tabung reagen lisis yang bertabel sesuai. Campur.
3. Diamkan selama 5 menit atau sampai lisis sempurna terlihat. Hemolisis dapat disimpan hingga 10 hari pada suhu 2-8 ° C.

PROSEDUR

1. Kondisi pengujian:
Panjang gelombang: 660 nm (600 – 660)
Kuvet: 37°C
Suhu: 1 cm light path
2. Sesuaikan instrumen ke nol dengan air destilasi.
3. Pipet ke dalam kuvet:

4. Campur dan inkubasi selama 5 menit.
5. Pipet ke dalam kuvet:

R2	60	60	60
----	----	----	----

6. Campur dan baca absorbansi setelah 5 menit (A) dan tambahkan R2.

KALKULASI

Konsentrasi HbA_{1c} (%) Plot (A) yang diperoleh terhadap konsentrasi HbA_{1c} dari setiap kalibrator (Level 1 hingga 4). Persentase HbA_{1c} dalam sampel dihitung dengan interpolasi dari absorbansi (A) dalam kalibrasi kurva.

KUALITAS KONTROL

Kontrol HbA_{1c} (ref: 43106) adalah direkomendasikan untuk memantau kinerja prosedur pengujian manual dan otomatis. Kontrol memerlukan pra-perawatan hemolisis setelah dilarutkan. Setiap laboratorium harus menetapkan skema Kontrol Kualitasnya sendiri dan tindakan korektif jika kontrol tidak memenuhi toleransi yang dapat diterima.

NILAI REFERENSI

Nilai yang Direkomendasikan: kurang dari 6% untuk non-diabetes, kurang dari 7% untuk kontrol glikemik pada penderita diabetes. Setiap laboratorium harus menetapkan nilai yang diharapkan sendiri. Dalam menggunakan Hemoglobin A_{1c} untuk memantau pasien diabetes, hasilnya harus diinterpretasikan secara individual. Artinya, pasien harus dipantau terhadap dirinya sendiri. Ada jeda waktu 3-4 minggu sebelum Hemoglobin A_{1c} mencerminkan perubahan kadar glukosa darah.

KARAKTERISTIK KINERJA

1. Rentang pengukuran: Dari batas deteksi 2% hingga batas linearitas 16%

2. Presisi:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (%)	5,95	12,15	5,97	12,21
SD	0,19	0,18	0,14	0,15
CV (%)	3,20	1,47	2,31	1,24

3. Sensitivitas: 1% = 0,056 (A)

4. Akurasi: Hasil yang diperoleh dengan menggunakan reagen SEIDIA (y) tidak menunjukkan perbedaan bila dibandingkan dengan reagen komersial lainnya (x). Hasil yang diperoleh dengan menggunakan 40 sampel adalah sebagai berikut:
Koefisien korelasi (r) 2 0,995
Persamaan regresi: y = 0,989x - 0,047
Hasil karakteristik kinerja tergantung pada alat analisis yang digunakan.

INTERFERENSI

1. Bilirubin hingga 50 mg/dL, asam askorbat hingga 50 mg/dL, trigliserida hingga 2000 mg/dL, Hb karbamid sampai 7,5 mmol/L dan Hb asetat sampai 5,0 mmol/L tidak mengganggu pengujian ini.
2. Tes ini tidak boleh digunakan sebagai tes unik untuk diagnosis diabetes melitus. Tes lain juga harus dipertimbangkan untuk mengakkan diagnosis yang benar.
3. Spesimen pasien harus selalu diuji menggunakan kurva kalibrasi.
4. Telah dilaporkan bahwa hasil mungkin tidak konsisten pada pasien yang memiliki kondisi berikut: kecanduan opiat, keracunan timbal, alkoholisme, menelan aspirin dalam dosis besar.^{6, 7, 8, 9}
5. Telah dilaporkan bahwa peningkatan kadar HbF dapat menyebabkan underestimasi HbA_{1c} dan, bahwa uremia tidak mengganggu penentuan HbA_{1c} dengan immunoassay.¹⁰ Telah dilaporkan bahwa intermediet yang labil telah dilaporkan bahwa zat antara yang labil (basa Schiff) tidak terdeteksi dan oleh karena itu, tidak mengganggu penentuan HbA_{1c} dengan immunoassay.⁵
6. Telah ditentukan bahwa varian Hemoglobin HbA₂, HbC dan HbS tidak mengganggu dengan metode ini.
7. Varian hemoglobin yang sangat langka lainnya (misalnya HbE) belum dinilai.

CATATAN

1. Untuk menghindari kontaminasi, disarankan untuk menggunakan bahan sekali pakai.
2. Gunakan pipet sekali pakai yang bersih untuk dispensasi.
3. SEIDIA memiliki lembar instruksi untuk beberapa penganalisis otomatis

BIBLIOGRAFI

1. Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284,353 (1971).
2. Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
3. Gabbay, K.H., Hasty, K., Breslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
4. Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 16 (Jan. 1978).
5. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p.794-795 (1999).
6. Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, p. 379 (1982).
7. Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32, pp. 358-360 (1986).
8. Fluckiger, R., et al, New Eng. J. Med. 304 pp. 823-827 (1981).
9. Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, pp. 466-469 (1983).
10. Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, pp. 93-97 (1989).
11. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).

KEMASAN

Ref. 5K0101	Cont.	R1: 1 x 30 mL, R2: 1 x 10 mL
Ref. 8K0101		R1: 2 x 45 mL, R2: 2 x 15 mL
Ref. 14K0101		R1: 2 x 45 mL, R2: 2 x 15 mL