

B-HbA1c Afinion (SKA09525)

Bakgrund, indikation och tolkning

HbA1c i helblod används som ett mått på den genomsnittliga glukoskoncentrationen under de senaste 2-3 månaderna. Cirka 50 % av HbA1c-värdet avspeglar glukosläget under månaden innan provtagning, förändringar i glukoskoncentrationen under veckorna direkt före provtagning spelar således störst roll [1]. HbA1c-värdet regelbundet mätt under längre tidsperioder korrelerar väl med risken att utveckla diabeteskomplikationer, t.ex. ögon-, njur- och nervskador. Regelbunden analys av HbA1c skall göras på alla diabetespatienter och vid värden över det rekommenderade behandlingsmålet justeras patientens medicinerings- och livsstilsråd ges [2-4].

Värdet på HbA1c anger storleken på den fraktion av hemoglobinmolekylerna som är glykerad. Erythrocyterna är fritt permeabla för glukos och bl.a. hemoglobins beta-kedja kommer successivt att glykeras (valin i N-terminalen). Endast HbA0 (innehållande två alfa- och två beta-globinkedjor) kan omvandlas till HbA1c, andra former av Hb-molekyler (t.ex. HbF, $\alpha_2\gamma_2$, och HbA2, $\alpha_2\delta_2$) kan således inte omvandlas till HbA1c.

Hemoglobinet glykeras under hela erythrocytens livslängd, en ung erythrocyt innehåller således mindre HbA1c än en gammal erythrocyt. Vid förkortad livslängd på erythrocyterna, t.ex. vid hemolys, kommer således HbA1c-värdet att bli falskt för lågt – dvs. patientens medelglukoskoncentration kan ha varit högre än vad HbA1c-värdet antyder. Det omvända gäller för erythrocyter med förlängd livstid. Glykeringen av beta-kedjans valin sker i två steg; först binder sig glukos till HbA och bildar en intermediär form, labilt HbA1c, i en snabb och reversibel reaktion. Labilt HbA1c (aldiminformen) övergår därefter långsamt till stabilt HbA1c (ketoaminformen), som kvarstår under erythrocytens kvarvarande livslängd. HbA1c (IFCC) definieras som irreversibelt glykerat Hb på en eller båda β -kedjornas N-terminala valin.

HbA1c används främst för att monitorera diabetesbehandlingen. Analysen kan idag även användas för diagnostik av typ 2 diabetes mellitus hos icke-gravida vuxna [5, 6]. Verifierande HbA1c-analys bör utföras av sjukhuslaboratorium på venöst taget prov innan diabetesdiagnos ställs då dessa analysmetoder klarar uppsatta kvalitetsmål [7, 8].

Analysprincip

Afinion™ HbA1c är ett automatiserat boronat-affinitetstest för bestämning av hemoglobin A1c i humant helblod.

Afinion™ HbA1c testkassett innehåller alla reagens™ som behövs för bestämning av HbA1c-koncentrationen. Provet tas med en provtagningsenhet som är integrerad med testkassetten. Provet späds och blandas med en lösning som frisätter hemoglobin från erythrocyten. Hemoglobinet fälls ut. Provblandningen överförs till ett blåfärgat borsyrekonjugat som binds till cis-diol-konfigurationen på glykerat hemoglobin. Denna reaktionsblandning sugas genom ett membran. Allt utfällt hemoglobin, både konjugatbundet och obundet (motsvarar glykerat och icke-glykerat hemoglobin) blir kvar på membranet. Överskott av färgat konjugat tas bort från membranet med en tvättlösning.

Fällningen på membranet analyseras av Afinion™ instrumentet. Med en reflektionsmätning bestäms blå (glykerat hemoglobin) och röd (total hemoglobin) färgintensitet. Förhållandet mellan dessa två är proportionellt mot % HbA1c i provet. HbA1c-koncentrationen visas på Afinion™ instrumentet i enheten mmol/mol [9].

Metodbeskrivning

B-HbA1c (PNA) Afinion (SKA09525)Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Referensintervall

< 50 år	27-42 mmol/mol
≥ 50 år	31-46 mmol/mol [10]

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

Om provet har ett Hb < 60 g/L eller > 200 g/L, ges inget resultat utan en informationskod visas. HbA1c ska i dessa fall analyseras med en metod som har en annan analysprincip.

Patienter med > 11 % HbF får falskt låga HbA1c resultat.

Hemoglobinvarianterna HbC, HbD, HbE och HbS i heterozygot form påverkar inte mätningen av HbA1c.

Ingen signifikant interferens (< 7 %) ses upp till följande koncentrationer:

bilirubin (totalt och okonjugerat) < 1026 µmol/L, glukos < 27,8 mmol/L, triglycerider < 15,7 mmol/L, kolesterol < 9,1 mmol/L, Reumatoid faktor < 780 kIU/L, protein (total) < 150 g/L och glykerat albumin 7,7 g/L.

paracetamol 200 mg/L, acetylcystein 1663 mg/L, acetylsalicylsyra 1000 mg/L, ampicillin 1000 mg/L, askorbinsyra 300 mg/L, cyklosporin A 5 mg/L, cyklosporin C 5 mg/L, doxycyklin 50 mg/L, glibenklamid 1,9 mg/L, heparin 5000 U/L, ibuprofen 500 mg/L, levodopa 20 mg/L, metformin 40 mg/L, metyldopa 20 mg/L, metronidazol 200 mg/L, rifampicin 64 mg/L och teofyllin 100 mg/L.

Mätområde

20,0 -140,0 mmol/mol [9].

Mätosäkerhet**Mätosäkerhet**

Grundar sig på statistik från internkontroller på Vinslöv Vårdcentral under 10 månader, 2017-02-01 till 2017-11-30.

Nivå (µkat/L)	Medelvärde	Imprecision CV %	n
C1 Låg	43,6	4,0	41
C2 Hög	65,8	2,3	42

Spårbarhet

Afinion™ HbA1c är spårbar till IFCC:s referensmetod för bestämning av HbA1c [9].

Övrig information

Metoden är inte ackrediterad.

Referenser

1. Tahara Y, Shima K. The Response of GHb to Stepwise Plasma Glucose Change Over Time in Diabetic Patients. *Diabetes Care* 1993; 16; 1313-1314.
2. American Diabetes Association. Tests of Glycemia in Diabetes (Technical Review). *Diabetes Care* 2003, 26, S106-S108.
3. DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* (1993): 977-986.
4. The Diabetes Control and Complications Trial / Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group. Intensive Diabetes Treatment and Cardiovascular Disease in Patients with Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2005; 353; 2643 - 2653
5. Lilja M, Jansson S, Alvarsson M, et al. HbA1c blir kompletterande metod för diagnostik av diabetes. *Läkartidningen* 2013; 110: CLDX
6. Lilja M, Hellgren M, Jansson S. Diagnos och behandlingsmål vid diabetes typ 2. *Läkartidningen* 2018; 115.
7. Svensk förening för Klinisk kemi och Equalis. Genomförande av IFCC-kalibreringen för HbA1c – rekommendationer från SFKK och Equalis (Revision 1 2018-08-26)
8. Equalis expertgrupp för proteinanalyser och patientnära analyser. Kvalitetsmål för HbA1c-metoder som används för diagnostik av typ 2 diabetes.
9. Bipacksedel Afinion HbA1c, Kasset, Aktuell version
10. Bäck S-E. Towards Common Reference Intervals in Clinical Chemistry. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37 (5) 573-592.
11. AfinionTM Användarmanual, aktuell version

Metodbeskrivning

B-HbA1c (PNA) Afinion (SKA09525)Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Provtagning**Rörtyper**

Kapillära HbA1c tas direkt med provtagningsenheten från testkassetten alternativt i mikrotainer-rör med antikoagulationsmedel (EDTA eller Li-heparin).

Venöst prov tas i rör med antikoagulationsmedel (EDTA, Li-/Na-heparin eller Na-citrat) [9].

Provolym

Vid kapillärprov ska kapillären i provtagningsenheten från testkassetten fyllas helt (1,5 µL) [9].

Provhantering**Hållbarhet**

Analys av testkassetten ska påbörjas inom 1 minut efter det att kapillären i provtagningsenheten fyllts med material för att undvika intorkning och koagulering av provet.

Venöst helblod med antikoagulan är hållbart 8 timmar i rumstemperatur eller 10 dagar i kylskåp [9].

Instrument och tillbehör

Afinion™ AS100-instrument.

Reagens**Beteckning**

Afinion™ HbA1c kassetter, 15st/förpackning.

Beredning

Reagenskassetter ska vara rumstempererade vid analys.

Förvaring och hållbarhet

Testkassetter kan förvaras i öppnade foliepåsar i rumstemperatur i 3 månader. En testkassett ska användas inom 10 minuter efter det att foliepåsen öppnats.

Vid kylförvaring är testkassetterna hållbara till det utgångsdatum som anges på foliepåsen.

Kalibrator

Afinion™ AS100 instrumentet är fabrikskalibrerat. Kalibreringsdata som är testspecifik upprättas för varje lot av testkassetter och lagras sedan i streckkodsetiketten. Vid avläsning av streckkoden överförs aktuell kalibreringsdata till instrumentet.

Interna kontroller**Beteckning**

Afinion™ HbA1c kontroll C1

Afinion™ HbA1c kontroll C2

Metodbeskrivning

B-HbA1c (PNA) Afinion (SKA09525)

Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Kontrollförfarande

Kontrollflaska ska stå framme i rumstemperatur i 45 minuter före analys.
Skaka kontrollflaskan kraftigt i 30 sekunder direkt före analys.

Analysera kontroll C1 (låg nivå) och kontroll C2 (hög nivå), en gång varje vecka, under två separata dagar samt:

- vid ny leverans av testkassetter
- när nytt lot-nummer på reagenskassetter tas i bruk
- vid oväntat patientresultat

Dokumentera kontrollens lot-nummer på kontrollbladet. Resultatet godkänds om mätningen av internkontroll ligger inom åsatta gränser (9).

Förvaring och hållbarhet

Oöppnad flaska Afinion™ HbA1c kontroll är hållbar i kylskåp till utgångsdatum, se förpackningen.
Öppnad flaska Afinion™ HbA1c kontroll är hållbar i kylskåp i 2 månader [7].

Externa kontroller

Beteckning

Equalis, Hemoglobin A1c, program 12,10 utskick/år.

Utförande av Patientanalys

Se tillverkarens användarhandbok.
Analystiden är 3,5 minuter.

Tekniskt/medicinskt godkännande

Interna kontroller ska ligga inom angivna gränser. Se bipacksedeln till Alere Afinion™ HbA1c Kontroll.

Svarsrapportering

Svar anges i mmol/mol utan decimaler.
Resultat under 20 mmol/mol besvaras med < 20 mmol/mol
Resultat över 140 mmol/mol besvaras med >140 mmol/mol

Säkerhetsföreskrifter

Använd engångshandskar.
Testkassetten får inte användas om foliepåsen eller kassetten är skadad.
Testkassetter hanteras som konventionellt/brännbart avfall enligt lokala rutiner.

Ansvariga personer

Processledare Charlotte Wigermo

Medicinskt ansvarig Jenny Apelqvist

Metodansvarig Eva Rask

Utarbetad av

Dokumentförvaltare
Charlotte Wigermo 115466

Dokument id
18-553