

## **B-HbA1c på Roche Cobas, Helsingborg, Ängelholm, Kristianstad (NPU Kod 27300)**

### **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. 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 medicinering och ges livsstilsråd.

Värdet på HbA1c anger storleken på den fraktion av hemoglobinmolekylerna som är glykerad. Erythrocyterna är fritt permeabla för glukos och bl.a. hemoglobinet 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. pga 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 den stabila ketoaminformen, HbA1c som kvarstår under erythrocytens kvarvarande livslängd. HbA1c definieras (IFCC) som irreversibelt glykerat Hb på en eller båda  $\beta$  – kedjornas N-terminala valin. Det nya (fr.o.m. 2010-09-01) fullständiga namnet på analyten är Hemoglobin betakedja(Blod)—N—(1-deoxifruktos-1-yl)hemoglobin betakedja;substansfraktion.

HbA1c besvaras sedan 2011-01-01 i IFCC-enheten mmol/mol, behandlingsmålet vid diabetes mellitus är HbA1c (IFCC) mindre än 52 mmol/mol, dock skall behandlingsmålet sättas individuellt utifrån en klinisk nytto- och riskbedömning. [8]

HbA1c kan idag även användas för att ställa diagnos för Diabetes typ II.[13]

### **Analysprincip**

Denna metod använder TTAB\* som detergent i hemolysreagenset för att eliminera interferens från leukocyter.

Förbehandling av prov för att ta bort labilt HbA1c är inte nödvändig.

Alla hemoglobinvarianter som är glykerade vid  $\beta$ -kedjans N-terminal och som har antikropp-påvisbara områden som är identiska med HbA1c bestäms med denna analys. Följaktligen kan den metaboliska statusen för patienter med uremi eller de vanligaste hemoglobinopatierna (HbAS, HbAC, HbAE) bestämmas med denna analys. [6]

\*TTAB = Tetradecyltrimetylammoniumbromid

**B-HbA1c på Cobas (NPU 27300)**

HbA1c-bestämningen är baserad på den turbidimetriska inhiberingsimmunanalysen (TINIA) för hemolyserat helblod.

- Prov och tillsats av R1 (buffert/antikropp): Glykohemoglobin (HbA1c) i provet reagerar med anti-HbA1c antikropp och bildar lösliga antigen-antikropp-komplex. Då det specifika HbA1c antikropp-stället förekommer endast en gång på HbA1c-molekylen bildas inga olösliga komplex.  
Tillsats av R2 (buffert/polyhaptent) och start på reaktion:  
Polyhaptenterna reagerar med överskott av anti-HbA1c-antikroppar och bildar ett olösligt antikropp-polyhaptentkomplex som kan bestämmas turbidimetriskt.[6]
- Hemoglobin-bestämning: Frisatt hemoglobin i det hemolyserade provet omvandlas till ett derivat med ett karakteristiskt absorptionsspektrum som mäts bikromatiskt under preinkubationsfasen (prov + R1) av ovanstående immunologiska reaktion. Ett separat Hb-reagens är följaktligen inte nödvändigt. Det slutliga resultatet uttrycks som mmol/mol HbA1c och beräknas från A1c/Hb-förhållandet på följande sätt:  
Protokoll 1 (mmol/mol HbA1c enligt IFCC):  $\text{HbA1c (mmol/mol)} = (\text{A1c/Hb}) \times 1000$  [6]

**Referensintervall**

<50 år 27 - 42 mmol/mol

≥50 år 31 - 46 mmol/mol

<52 mmol/mol är medicinskt önskvärt mål vid diabetes, dock skall behandlingsmålet sättas individuellt utifrån en klinisk nytto- och riskbedömning.[8]

**Diagnosgräns**

48 mmol/mol för Diabetes typ II [13]

42–47 mmol/mol är observansområde för patient som riskerar att utveckla diabetes [13]

**Metodkaraktistika****Interferenser och felkällor****Inteferenstabell**

Substans	Gradering
Hemolys	Påverkar ej.
Lipemi	Påverkar ej upp till 6,8 mmol/L (Intralipid).
Bilirubin	Påverkar ej upp till I-index 60 (ca 1000 μmol/L).
HbF > 10%	Fetalt Hemoglobin > 10% kan ge falskt låga värden för HbA1c

- Labilt HbA<sub>1c</sub> (Shiffs bas), acetylerat Hb eller karbamyleterat Hb påverkar ej resultatet.

Metodbeskrivning

**B-HbA1c på Cobas (NPU 27300)**Gäller för  
Klinisk kemi

HG, KD, ÄN

- Alla hemoglobinmolekyler som är glykerade på det N-terminala Valinet i  $\beta$ -kedjorna kvantifieras i analysen. Prover från patienter med de vanligaste Hb-varianterna (HbAS, HbAC, HbAE) kan därför analyseras. [6]

**Mätområde**

Hb 4-40 g/dL

A1c 0,3-2,6 g/dL

Detta motsvarar ett mätintervall på 23-196 mmol/mol HbA1c (IFCC) vid en typisk Hb konc på 13,2 g/dL

**Mätosäkerhet**

Tot-CV internkontroller 6 mån &lt; 3% [14]

**Spridning****6 mån statistik internkontroller****Helsingborg**

B- HBA1C(IFCC)

CoID	Mean	CVtotal%	n	DateRange
999181	33,58	2,55	575	2015-04-14 - 2015-09-30
999182	80,63	2,19	663	2015-04-14 - 2015-09-30

**Ängelholm**

B- HBA1C(IFCC)

CoID	Mean	CVtotal%	n	DateRange
999181	33,51	2,95	302	2015-04-01 - 2015-09-30
999182	83,5	2,52	329	2015-04-01 - 2015-09-30

**Kristanstad**

B- HBA1C(IFCC)

CoID	Mean	CVtotal%	n	DateRange
999181	33,91	2,71	322	2015-04-01 - 2015-09-30
999182	82,95	2,84	317	2015-04-01 - 2015-09-30

**Spårbarhet**Roche, C.f.a.s HbA<sub>1c</sub> kalibrator har spårbarhet till IFCC referensmetod. [11]**Ackreditering**

Metoden är ackrediterad

Metodbeskrivning

**B-HbA1c på Cobas (NPU 27300)**Gäller för  
Klinisk kemi

HG, KD, ÄN

**Referenser**

1. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1993; 329; 977-986.
2. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). Lancet 1998; 352: 837-853.
3. Instrumenthandledning cobas 6000/8000, aktuell version
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. Tahara Y, Shima K. The Response of GHb to Stepwise Plasma Glucose Change Over Time in Diabetic Patients. Diabetes Care 1993; 16; 1313-1314.
6. Applikation A1C-3, Tina-quant Hemoglobin A1c, Gen 3, Roche ACN 871 (Hb), ACN 881 (HbA<sub>1c</sub>), ACN 891 (% HbA<sub>1c</sub>), 2013-08, version 4.0
7. Equalis, Check of the conversion equation for the Swedish Designated Comparison Method in the IFCC Monitoring Programme.
8. Svensk förening för Klinisk kemi i ;Equalis: Genomförande av IFCC-Kalibreringen för HbA<sub>1c</sub>-rekommendationer från SFKK och Equalis. Revision1 2010-08-26
9. Roche Diagnostic Produktinfo ; 30 April 2010. Ny enhet B-HbA1c mmol/mol (IFCC)
11. Jan-Olof Jeppsson, Uwe Kobold, JohnBarr. Approved IFCC Reference Method for the Measurement of HbA1c in Human Blood , Clin Chem Lab Med 2002; 40(1):78–89
12. Tillåten avvikelse vid omanalys Cobas C-modul, dokument-ID: 6585, Public 360
13. HbA1c blir kompletterande metod för diagnostik av diabetes Läkartidningen 49–50/2013 Lilja et al <http://www.lakartidningen.se/EditorialFiles/DX/%5bCLDX%5d/CLDX.pdf>
14. Kvalitetsmål för HbA1c-metoder som används för diagnostik av typ 2 diabetes (Equalis) [http://equalis.se/media/92081/S006\\_Kvalitetsmål%20för%20HbA1c\\_2.1.pdf](http://equalis.se/media/92081/S006_Kvalitetsmål%20för%20HbA1c_2.1.pdf)