

Metodbeskrivning

HbA1c, DCA Vantage

Indikation

Diabetes, utredning och kontroll.

Medicinsk bakgrund

Adekvata metoder för bedömning av medelblodglukosnivån under längre tid är essentiellt för korrekt glykemikontroll i avsikt att förhindra allvarliga mikrovaskulära komplikationer från olika organsystem som ögon, njurar blodkärl m.m. Ketoaminen HbA1c speglar den genomsnittliga B-glukosnivån under en period av 2 - 6 veckor före provtagningen.

Mätprincip

Ett agglutinerande medel (syntetisk polymer som innehåller flera kopior av den immunoreaktiva andelen av HbA1c) orsakar agglutination av latex täckt med musmonoklonal antikropp specifik för HbA1c. Agglutinationsreaktionen orsakar ökad ljusspridning vilket mäts som en ökad absorbering vid 531 nm. HbA1c i helblodsprov konkurrerar om det begränsade antalet antikroppslatexbindningsställen vilket orsakar en inhibition av agglutinationen och minskad ljusspridning. Den minskade spridningen mäts som en minskad absorbering vid 531 nm. HbA1c -koncentrationen kvantifieras därefter med hjälp av en kalibreringskurva för absorbering kontra HbA1c -koncentration.

Alla mätningar och beräkningar sker automatiskt i DCA Vantage

Provtagning/ provhantering

Kapillära HbA1c tas i medföljande glaskapillär

Venprov tas i rör med antikoagulationsmedel EDTA (lila propp). Även heparin, flourid/oxalat eller citrat rör kan användas.

Provet får inte innehålla koagel.

Skall **ej** centrifugeras.

I helblod som förvaras vid 4-8°C under 8-12 dagar sker det inga större oxidativa förändringar av hemoglobinet.

För helblod som fryses vid -20°C är förändringen i HbA1c nivån märkbar efter 14-28 dagar.

Fryses helblodet vid -80°C tar det flera veckor innan nivån av HbA1c förändras, men även vid förvaring i flera år blir förändringen liten.

Utrustning

DCA Vantage
 DCA Vantage Hemoglobin A1c-reagensförpackning.
 DCA Vantage Hemoglobin A1c-kontrollförpackning
 Patientprov
 Luddfriduk

UNDERHÅLL

Varje vecka	Varje kvartal	Vid behov (vid felsökning, kontamination m.m.)
Rengör instrumentets utsida	Byt luftfilter Rengör kassetthållaren Kör optisk testkassett	Rengör instrumentets utsida Byt luftfilter Rengör streckkodsfontret Kör optisk testkassett

OBS! Notera utfört underhåll i loggbok!

Rengöring av instrumentets utsida:

- Slå av instrumentet och dra ur sladden.
- Använd luddfri duk fuktad med vatten eller etanol.

Byte av luftfilter:

Ta ur filterhållaren på instrumentets baksida:

- a. Dra loss hållaren längs övre kanten genom att vrida det moturs tills det tar stopp och sedan ta loss den.
- b. Kassera det gamla filtret.
Sätt i ett nytt filter i hållaren.
- c. Sätt tillbaka filterhållaren på instrumentet och vrid hållaren medurs tills det tar stopp.

Rengöring av kassetthållaren: varje kvartal

Slå av instrumentet och dra ur sladden.

OBS! Vätska som droppar in i instrumentet kan förstöra optiken.

1. Öppna luckan till kassett till kassettfacket så mycket det går.
2. Torka luckans insida samt ytorna inuti facket med en luddfri torkduk fuktad med vatten eller etanol.
3. Torka torrt med luddfri duk.
4. Lokalisera kassettfjäders inuti kassetthållaren.
5. Sätt spetsen på ett utträtat gem (eller liknande) i det översta hålet på kassettrurfjäders.
6. Lösgör fjäderns ena sida från kassetthållaren genom att försiktigt föra gemspetsen mot kassettfackets mitt.

7. Lös gör fjäderns andra sida genom att upprepa steg 7
8. Dra ut hela fjädern ur instrumentet.
9. Rengör kasettfjädern med mildt rengöringsmedel och vatten eller torkduk fuktad med etanol. OBS! var försiktig så att du inte böjer eller skadar fjäderlamellerna vid rengöringen. Fjädern kan då inte fungera ordentligt..
10. Torka fjädern torr med luddfri torkduk.
11. Torka bort eventuella vätskedroppar från kasetthållaren med en ren, torr svamp (finns i rengöringssatsen).

OBS! Använd inte bomullspinne/tops för att bomullsfibrer kan förstöra det optiska systemet. Stäng dörren delvis för att rotera kasetthållaren och ta bort eventuell vätska med rengöringspinne fuktad med vatten eller etanol.

OBS! Vätska som droppar in i instrumentet kan förstöra optiken.

12. Torka bort eventuell kvarvarande vätska i facket genom att rotera kasetthållaren med luckan delvis öppen.
13. Fukta en svamp med vatten eller etanol.
14. Rengör kasetthållaren, rotera den om det behövs.
15. Lokalisera de vertikala skårorna i kasettfacket.
16. Lokalisera de främre och bakre springorna nära fackets övre kant.
17. Lokalisera fjäderlamellen kasettfjäders ena sida.
18. Håll lamellen i riktning mot instrumentets baksida och passa in den så här:
 - a. Fatta om båda sidorna av kasettfjädern.
 - b. Tryck ihop sidorna och för ned fjädern i instrumentet, fjäderns sidor ska glida mellan de vertikala skårorna i de vertikala skårorna i kasettfacket.
 - c. Släpp fjädern.
 - d. Tryck försiktigt in fjäderkassetten och passa in lamellen i springan.
 - e. Upprepa steg C och passa in kasettfjäders andra sida.
 - f.

Kör den optiska testkassetten för att kontrollera att optiken inte skadats.

Testa optik

Med den optiska testkassetten kan du övervaka instrumentets optiska prestanda över tiden. Du bör spara erhållna testresultat avseende t.ex. medeltransmittans, standardavvikelse och avdrift.

Jämföra nya värden med ursprungsvärdena

Den genomsnittliga transmittansen (T) = Mäter hur mycket ljus som lampan sänder ut. Medeltransmittansen skall ligga mellan 0,9500 och 1,0500 och ska inte ha varierat med mer än $\pm 0,0100$.

Standardavvikelsen (SD) bör vara mindre än 0,0015 och avdrift mindre än 0,0140.

1. Lokalisera streckkoden på den optiska testkassetten.
2. Håll kassetten så att streckkoden vetter åt höger.
3. För in kassetten i streckkodsskåran.

4. Dra kassetten nedåt längs skåran i en jämn rörelse. Inläsningen bekräftas med en ljudsignal.
5. Välj Ange
6. Öppna luckan till kassettfacket.
7. Håll den optiska testkassetten så att streckkoden vetter åt höger.
8. för in kassetten i facket tills du hör ett klickljud.
9. Stäng luckan.
10. Skriv ned resultaten efter 6 minuter då analysen är klar.
11. Ta ut kassetten och kassera den.
- 12.

Om ni får ett avvikande värde BEROR detta på damm/smuts framför lampan

Åtgärd filterbyte, kolla ev kassettklämma

Ny optisk test, om dåliga värden kontakta produktspecialist

För mer information se Användarmanualen.

Reagens

HbA1c, Reagenskassett, Siemens.	
Innehåll:	<p>Reagensen finns i förfyllda kyvetter och varje kassett består av fyra delar:</p> <p>Buffertlösning: 8,1% (vikt/volym) Litiumtiocyanat, 200mM Glycinbuffert, 0,1% digitonin (0,6 ml i varj kassett)</p> <p>Oxidationsmedel: 1,5 % (vikt/volym) Kaliumferricyanid i vatten med 21% (vikt/volym) icke reaktiva ingredienser, (10µl torkat i varje kassett)</p> <p>Antikropps latex: HbA1c-specifika monoklonala antikroppar från mus, absorberade på latexpartiklar. 2,5% (vikt/volym) antikropps-latex i 10mM glycerinbuffert, 16%(vikt/volym) icke-reaktiva ingredienser (10µl torkat i varje kassett)</p> <p>Agglutinator: 0.005% (vikt/volym) polymer av polt(asparaginsyra)- polymer kovalent bundna till HbA1c-hapten, 20 mM Natriumcitrat buffert med 0.1% (vikt/volym) BSA, 1% (vikt/volym) icke reaktiva ingredienser (10µl torkat i varje kassett)</p>
Beredning:	Reagenskassetten måste acklimatiseras i minst 15 min i rumstemperatur efter förvaring i kyla innan analys.
Förvaring Hållbarhet	Reagenskassetterna är hållbara till utgångsdatum vid förvaring i kylskåp. Reagenskassetterna är hållbara 90 dagar i rumstemperatur.

Miljö- och säkerhetsaspekter

Testkassetter hanteras som konventionellt/brännbart avfall enligt lokala rutiner.

Metodkontroller

Intern kontroll

DCA Systems Hemoglobin A1_C normal och abnormal, Siemens	
Innehåll:	Siemens DCA™ Systems Hemoglobin A1c, kontroll normal och abnormal Frystorkat blod. 2 normala och 2 abnormala (4x0,25ml). Rekonstruktionslösning (avjoniserat vatten och konserveringsmedel, 1x2,0ml). 4 pipetter. Kalibreringskort med streckkod på båda sidor för normal och abnormal. Bipacksedel.
Beredning:	<ul style="list-style-type: none"> - Ta fram en flaska DCA Hemoglobin A1_C normal eller abnormal. Använd direkt från kylskåpet. - Knacka försiktigt flaskan mot bordet så att pulvret lägger sig i botten. - Öppna flaskan sakta och försiktigt så att inte pulvret flyger ut. Det är vakuum i flaskan. - Tillsätt 6 droppar av rekonstruktionslösningen. OBS! Ta först bort en droppe så att volymen blir konstant. - Sätt på locket. - Snurra försiktigt flaskan så att allt pulver löser sig. SKAKA ALDRIG FLASKAN! - Låt flaskan stå i 15 minuter. - Vänd flaskan och snurra den tills pulvret är helt löst och innehållet är homogent. - När kontrollen är färdig ska den behandlas och analyseras som patientblod. - Lossa och kassera locket. Byt ut den mot droppipetten.
Förvaring: Hållbarhet:	Ej rekonstruerade DCA-kontroller för normal och abnormal värde av HbA1c är stabil tills utgångsdatum om den förvaras vid 2-8°C. Efter preparering är kontrollserumet stabilt i 90 dagar vid 2-8°C. Rekonstruerat kontrollblod får inte frysas. Rekonstruerat kontrollblod skall förvaras i rumstemperatur så kort tid som möjligt.

Analysfrekvens intern kontroll

Varje gång man får hem en ny leverans av kassetter och vid lotbyte

Används instrumentet för diagnostik av typ 2 diabetes skall internkontrollen analyseras på två olika nivåer varje dag instrumentet används.

Extern kontroll

Equalis Patientnära analyser Hemoglobin A1c	
Antal utskick/år:	10 x 1 nivå/ omgång
Leverantör:	Equalis.
Innehåll:	Poolat helblod med tillsats av K2-EDTA
Beredning/ förvaring/ hållbarhet	Se medföljande instruktion.
Rapportering av resultat:	Erhållet resultat inrapporteras till Equalis
Komponenter:	Hemoglobin A1c

Utförande

Förberedelser:

- Sätt på instrumentet. Uppvärmning sker några minuter.
- Kalibrera vid LOT-nummerbyte genom att dra kalibreringkortet genom streckkodsläsaren med koden till höger. En signal bekräftar en lyckad inläsning.
- Ta ut en reagenskassetten ur förrådet och rumstemperea den i 10 minuter. Tag en kapillärhållare ur reagenskartongen.
- Öppna folieförpackningen genom att försiktigt riva isär den. Använd inga vassa föremål, t.ex. sax.
- Rör **inte** vid det optiska avläsningsfönstret på kassetten!
- Kontrollera att inte kassetten och avläsningsfönstret är skadat.
- Kassera reagenskassetten om den är skadad, om platsfliken är lös eller saknas, om påsen med torkmedel är öppen eller saknas.
- Tag fram en kapillärhållare. Oanvänd kapillärhållare kan sparas och användas med Hemoglobin A1c-reagenskassetter med valfritt lotnummer.
- Öppna plasten genom att dra i det markerade hörnet.
- Kontrollera att den har absorptionsmaterial, glaskapillär och låsmekanism. Kassera den om något saknas.

Provtagning:

Utförande om glaskapillären fylls med 1µl blod från ett stick i fingret.

- Vinkla kapillärhållaren.
- Håll endast spetsen på kapillären mot en liten bloddroppe på fingret tills kapillären är fylld.
- Om blodet kommer i kontakt med kapillärhållaren ska den kasseras.
-

Utförande om glaskapillären fylls med 1µl blod från ett EDTA-rör.

- Blanda röret noggrant.
- Ta bort korken på röret så att lite blod sitter kvar i korken.

- Vinkla kapillärhållaren.
- Låt endast spetsen av kapillärhållaren vidröra blodet i kroken.
- Fyll aldrig kapillären direkt från ett provrör.
- Om blodet kommer i kontakt med kapillärhållaren ska den kasseras.
- När kapillären är fylld med blod **måste** analysen påbörjas inom 5 minuter.

Analys:

- För reagenskassetten genom streckodsläsaren med koden till höger. En kort signal hörs.
- Placera kapillärhållaren i reagenskassetten. Ett knäpp ska höras när den är på plats.
- Lyft locket till reagensfacket och sätt i kassetten. Se till att kassetten är låst längst ned i facket.
- Håll fast kassetten med ena handen och dra försiktigt upp folieremsan så bufferten frigörs.
- Stäng luckan.
- Efter 5 sekunder hörs en signal och analysen börjar.
- Efter 6 minuter är analysen klar och resultatet presenteras.

Efter analys:

Skriv upp resultatet, det visas 15 min om man inte öppnar luckan och bara 30 sekunder efter man öppnat luckan.

Ta ut reagenskassetten genom att öppna luckan och tryck ned den grå knappen till höger om kassetten. OBS! Använd inte våld!

För kassetten åt höger och dra försiktigt upp den utan att släppa den grå knappen.

Släng reagenskassetten med kapillärhållaren kvar i.

Interferens/ felkällor

Patient som har hemolytisk anemi får falskt låga värden.

Vid enstaka hemoglobinopatier kan värde ej beräknas.

Bilirubin över 340 μ mol/L och triglycerider över 15 mmol/L interfererar med metoden.

Prover som frysts, tinats och frysts igen ska inte analyseras med denna metod.

Fluorid stör analysen.

Patienter med > 10% HbF får falskt låga HbA1c resultat

Mätintervall

4– 130 mmol/mol HbA1c

Beräkning/ tolkning av resultat

Kontrollregler skall följas för godkännande av analys. Se även avsnitt Interferens, felkällor.

Svarsrutin

Resultat lämnas i mmol/mol

Resultat under 4 mmol/mol besvaras med < 4 mmol/mol .

Resultat över 130 mmol/mol besvaras med >130 mmol/mol

Referensintervall/ beslutsgräns

	HbA1c IFCC
Enhet:	mmol/mol
< 50 år:	27 - 42
> 50 år:	31 - 46

Metodstandardisering

Instrument: DCA-instrument kalibreras av tillverkaren. Därefter justeras instrumentet automatiskt när det startas första gången och under varje analys. I händelse av att systemet inte kan göra lämpliga justeringar visas felmeddelande.

Reagens: Varje reagenskassetlot genomgår grundlig analys och kontroll innan de släpps till försäljning av tillverkaren.

Värdena för kalibreringsparametrar baserade på en DCCT-referensmetod fastställs, vilket säkerställer optimala reagensprestanda. HbA1c-testmetoden för DCA är NGSP-certifierad (National Glycohemoglobin Standardization Program) och kan spåras till referensmaterial och testmetoder från IFCC. Till varje reagenskassetlot hör ett kalibreringskort med lagrade värden för olika reagenskalibreringsparametrar.

Utförande

Innan du använder en ny reagenskassetlot låter du analysinstrumentet läsa av kalibreringskortet. Innan prov kan analyseras görs en inläsning av streckkoden på reagenskassetten. Det ger åtkomst till rätt kalibreringskurva för det aktuella lotnumret för reagenskassetten.

Två olika kalibreringar av DCA-analys av HbA1c kan lagras i instrumentet.

Historik

DCD 2000+ fanns 2002 vid en del vårdcentraler
byttes ut till DCA Vantage 2008-11-11 vid Kliniks kemi Umeå

Referenser

Bipacksedel för DCA Systems reagenssats för hemoglobin A1c rev. 2011-03
Bruksanvisning för DCA Systems