

# När HbA<sub>1c</sub> inte stämmer

## OLIKA METODER KAN GE OLIKA RESULTAT – OCH IBLAND KAN ÄVEN RESULTAT SOM STÄMMER ÖVERENS GE FEL BILD AV GLUKOSBALANSEN

**Johan Jendle**, professor, överläkare, Universitetssjukhuset, Örebro

**Britta Landin**, docent, överläkare, Karolinska universitetssjukhuset, Stockholm

**Stefan Jansson**, med dr, specialist i allmänmedicin, Bräckebackens vårdcentral, Örebro

**Gunnar Nordin**, leg läkare, medicinsk rådgivare, Equalis, Uppsala  
 ● [gunnar.nordin@equalis.se](mailto:gunnar.nordin@equalis.se)

**HbA<sub>1c</sub>-värdet** har i dag en mycket stor betydelse för diabetesvården vid bedömningen av den enskilda patientens glukoskontroll och risk för långtidskomplikationer, men också som diagnostiskt instrument [1]. Målet för diabetesbehandlingen är ett så bra HbA<sub>1c</sub>-värde som möjligt utan hypoglykemier. God metaboll kontroll direkt efter diagnos minskar risken för både förtida död och kardiovaskulär sjukdom, inte minst om flera riskfaktorer är under kontroll [2].

Sverige har varit mycket aktivt i kvalitetsutvecklingen av HbA<sub>1c</sub>-analyser. De första nationella kvalitetsmålen för harmonisering av enskilda HbA<sub>1c</sub>-resultat fastställdes 1997 [3], och Sverige ligger fortfarande i toppskiktet vad gäller analysernas kvalitet [4].

Hos en och samma individ är HbA<sub>1c</sub>-värdet en mycket stabil variabel [5]. Även med en välkontrollerad metod visar resultaten som alltid en viss spridning, och som tumregel brukar anges att skillnader mindre än 5 mmol/mol mellan två mätningar inte ska tillmätas någon betydelse [6]. Ur epidemiologisk synvinkel är det givetvis viktigt att HbA<sub>1c</sub>-nivån är så sann som möjligt och stabil över tid. En ringa felvisning i metoden kan göra att många individer felklassificeras.

Även om HbA<sub>1c</sub>-mätning fungerar utmärkt för det stora flertalet individer, vill vi här lyfta fram att det finns enstaka individer som kan få ett HbA<sub>1c</sub>-resultat som inte alls avspeglar den glykemiska balansen. Vi syftar på fel i storleksordningen 10 mmol/mol, ibland upp mot 30 mmol/mol eller mer. Felvisningen kan innebära att resultatet ibland blir missledande lågt, ibland för högt. För den drabbade individen är missvisande resultat självklart av stor betydelse, och risken för skada orsakad av felaktig eller utebliven behandling är uppenbar.

### Erytrocyternas omsättning måste vara normal

En erytrocyt anses normalt överleva ca 4 månader (120 dagar) i cirkulationen. HbA<sub>1c</sub> bestäms av glukosexpositionen under erytrocytens hela livstid, men glukosnivåerna under månaden före provtagningen påverkar HbA<sub>1c</sub> mest [7]. Eftersom erytrocytomsättningen är svår att mäta har vi bristfälliga kunskaper om vad som påverkar den.

Vid uppenbar hemolytisk anemi, med uttalad haptoglobinsänkning och vanligen kompensatorisk retikulocytos, är HbA<sub>1c</sub>-nivåerna låga och kan, enligt vår erfarenhet, vara under 20 mmol/mol hos personer utan diabetes. Mindre uttalade och svårare att upptäcka är relativa HbA<sub>1c</sub>-sänkningar vid diabetes tillsammans med subkliniska hemolytiska tillstånd utan anemi (till exempel lindriga former av sfärocytos eller glukos-6-fosfatdehydrogenasbrist) eller förvärvade hemolytiska tillstånd (till exempel postinfektiös immunhemolys eller påverkan av mekanisk hjärklaff).

Att HbA<sub>1c</sub> skulle kunna vara falskt högt på grund av

förlängd erytrocytöverlevnad har diskuterats men är sannolikt ett mindre problem. Vid uttalad järnbrist och svår mikrocytär anemi finns dock möjligen en något förlängd erytrocytöverlevnad och en signifikant, men oftast ringa, ökning av HbA<sub>1c</sub> [8, 9]. När järnsubstitution inleds ökar andelen unga erytrocyter, varvid en övergående lätt sänkning av HbA<sub>1c</sub>-nivån kan ses [8]. Liknande fenomen kan förekomma vid substitution av folat- eller kobalaminbrist [10]. Vid okomplicerad graviditet ses också sänkta HbA<sub>1c</sub>-nivåer [11, 12] på grund av ökad erythropoes och därmed förkortad exponering av de röda blodkropparna för glukos [13].

Bristande uppmärksamhet på främst en ökad erytrocytomsättning kan alltså leda till att HbA<sub>1c</sub>-nivån feltolkas. Ett HbA<sub>1c</sub>-resultat under nivån 25 mmol/mol bör inge misstanke om förkortad erytrocytöverlevnad och primärt inte användas för att bedöma glukosbalansen. Även i fall med uppenbar hyperglykemi men förvånansvärt normalt HbA<sub>1c</sub> bör sänkt erytrocytöverlevnad övervägas och möjliga hemolysorsaker utredas.

### Hemoglobinvarianter – vanliga och ovanliga

De globalt sett vanligast förekommande hemoglobinvarianterna är HbS (sicklecellshemoglobin, främst förekommande i Afrika) och HbE (främst förekommande i sydöstra Asien). Utvecklare av mätmetoder för HbA<sub>1c</sub> strävar efter att ta fram metoder som inte påverkas alltför mycket av bärarskap (heterozygoti) av globalt vanliga hemoglobinvarianter. Avvikelse mindre än 7 procent från en referensmetod anses vara acceptabla. För prov från bärare av hemoglobinvarianter blir dock reproducerbarheten i mätningen oftast sämre än för normala prov, och framför allt vid byte mellan mät-

### HUVUDBUDSKAP

- HbA<sub>1c</sub>-analys är viktig för diagnostik av typ 2-diabetes, långtidsuppföljning av diabetesbehandling samt utvärdering av diabetesvården.
- Mätning av HbA<sub>1c</sub> omgärdas av stränga kvalitetskrav, och Sverige håller vid internationell jämförelse mycket hög kvalitet.
- Även med hög analyskvalitet avspeglar HbA<sub>1c</sub>-värdet inte alltid glukosnivåerna i plasma.
- HbA<sub>1c</sub>-analys bör endast användas då erytrocytomsättningen är normal.
- Ökad erytrocytomsättning ger lägre HbA<sub>1c</sub>-värde än förväntat utifrån glukosnivåerna, oberoende av mätprincip.
- Hemoglobinvarianter och andra faktorer kan ge gravt felaktiga, för höga eller för låga, HbA<sub>1c</sub>-värden; olika mätprinciper kan då ge helt olika resultat.

metoder kan skillnader iaktas. Även om själva mätningen av HbA<sub>1c</sub> är tillförlitlig kan överlevnadstiden för erythrocyter vara sänkt vid dessa tillstånd trots att uppenbar hemolys inte föreligger [14-16]. HbA<sub>1c</sub>-värdet anses dock av amerikanska diabetesförbundet (ADA) vara användbart för att följa glukosbalansen även hos bärare av HbS, HbE, HbC och HbD [17].

Hos dem som ärvt två anlag för hemoglobinvarianter eller talassemi är hemolytiska tillstånd vanligt förekommande. I dessa fall speglar HbA<sub>1c</sub>-resultaten således inte glukosbalansen.

Utöver de globalt vanliga hemoglobinvarianterna som nämnts ovan förekommer en mängd andra hemoglobinvarianter som oftast inte har någon påverkan på blodbild. Ca 1300 olika hemoglobinvarianter har rapporterats globalt, och minst 130 av dem har iakttagits i Sverige. I Stockholmsregionen förekommer i dag hemoglobinvarianter i närmare 1 procent av samtliga HbA<sub>1c</sub>-prov, varav endast omkring hälften tillhör de globalt vanliga.

Då HbA<sub>1c</sub>-mätning introducerades i Sverige var den laddningsseparerande Mono S-metoden helt dominerande, men i dag har den ersatts av flera nya metoder som också utnyttjar andra mätprinciper. Det är endast laddningsseparerande metoder [18] (Tabell 1) som kan signalera om det förekommer en hemoglobinvariant i provet. Vilka hemoglobinvarianter som kan upptäckas varierar också mellan olika laddningsseparerande metoder, och ibland är tecknen ytterst diskreta. Det finns risk att separationsmönster misstolkas och att felaktiga HbA<sub>1c</sub>-resultat levereras. Felen kan i värsta fall vara avsevärda och ibland blir resultaten falskt förhöjda, ibland falskt för låga. Ett sätt att upptäcka den här typen av fel är att två HbA<sub>1c</sub>-metoder som använder olika mätprincip visat stor diskrepans.

Ett HbA<sub>1c</sub>-resultat från en mätning där bärarskap av en hemoglobinvariant iakttagits bör förses med en kommentar (exempelvis »heterozygot för en hemoglobinvariant«). Det är en upplysning om att laboratoriet uppmärksammat avvikelser och tar ansvar för att HbA<sub>1c</sub>-resultatet trots detta är rimligt tillförlitligt ur analytisk synvinkel. Informationen ska inte föranleda oro eller omedelbar utredning. Om hematologiska basdata eller hereditet inte ger anledning att misstänka hemoglobinsjukdom av betydelse behövs ingen ytterligare undersökning. Upplysningen kan dock vara av värde om det finns anledning att ifrågasätta ett HbA<sub>1c</sub>-resultat.

## Annan analytisk interferens

Även andra förändringar av hemoglobinet än avvikelser i proteinstrukturen, som vid hemoglobinvarianter, kan orsaka problem med HbA<sub>1c</sub>-mätningen. Hos uremiska patienter kan ureakopplat (karbamylrat) hemoglobin iaktas [19]. Äldre HbA<sub>1c</sub>-metoder visade ofta falskt förhöjda HbA<sub>1c</sub>-resultat i sådana fall, men problemet har i dag till stor del bemästrats. Givetvis är HbA<sub>1c</sub> trots detta inte användbart hos gravt njursjuka individer som behandlas med dialys och/eller erytropoetin.

Regelbundet intag av acetylsalicylsyra kan orsaka acetylering av hemoglobin. Moderna analysmetoder brukar anges vara utan signifikant interferens från acetylerat hemoglobin, men detta kan ifrågasättas. En aktuell fallbeskrivning visar en falsk förhöjning av HbA<sub>1c</sub> med 28 mmol/mol i prov från en individ med

**TABELL 1.** HbA<sub>1c</sub>-metoder som i dag används i Sverige. Med rätt handhavande uppfyller samtliga dessa metoder det nationella kvalitetsmålet.

Metodprincip	Separerande egenskaper	Varumärken
● Jonbyteskromatografi	Skillnad i laddning mellan glykerat och icke-glykerat hemoglobin	Bio-Rad (Variant II Turbo, D-10, D-100) Tosoh (G7, G8, G11) Mono S
● Kapillärelektrofores	Skillnad i laddning mellan glykerat och icke-glykerat hemoglobin	Sebia Capillarys
● Affinitetskromatografi	Skillnad i affinitet till boronat mellan glykerat och icke-glykerat hemoglobin	Abbott Afinion
● Immunologiska metoder	Specifika antikroppar binder till glykerat hemoglobin	Roche Tina-quant Siemens DCA Vantage
● Enzymatiska metoder	Specifikt enzym bryter ner glykerat hemoglobin	Abbott Architect

salicylatkoncentrationen 230 mg/l, en nivå som kan uppnås vid salicylatintag av ca 3 g/dag [20]. Flera liknande fall av kraftigt förhöjda HbA<sub>1c</sub>-värden har setts i Sverige med olika jonbyteskromatografiska metoder. Omfattningen av detta troligen underskattade problem är okänd.

## Vad kan man göra när man inte litar på HbA<sub>1c</sub>?

Vad gäller HbA<sub>1c</sub>-resultat är alltså överensstämmelsen mellan olika mätmetoder mycket god för de flesta individer och de utgör ett utmärkt underlag för bedömning av glukosbalansen. För att tolka HbA<sub>1c</sub>-resultat behöver man som kliniker i allmänhet inte ha närmare kunskap om vilken HbA<sub>1c</sub>-metod som använts. Det räcker med att veta att den som provtas kan antas ha en normal erythrocytomsättning och att mätningen är kvalitets-säkrad. Men om HbA<sub>1c</sub> inte stämmer med glukosmätningarna eller om HbA<sub>1c</sub>-resultat skiljer sig på ett svår-förklarligt sätt mellan olika mätningar är det viktigt att tänka på möjliga felkällor. Då är det också viktigt att kunna klarlägga vilka mätmetoder som använts.

Resultaten för HbA<sub>1c</sub> i prov där det förekommer analytisk interferens är ofta ganska reproducerbara, och därför är det inte till stor hjälp att enbart ta om ett prov för mätning med samma metod igen om man är tveksam till det ursprungliga resultatet. I sådana fall är det bättre att jämföra resultaten från mätningar med olika mätprinciper (Tabell 1). Tyvärr rapporteras sällan metoduppgifter tillsammans med laboratorieresultat [21], varför det utförande laboratoriet behöver kontaktas vid eventuella oklarheter. Om resultaten från mätningar med olika mätprinciper skiljer sig åt med mer än 7-10 mmol/mol, det vill säga mer än vad osäkerheten som gäller för alla resultat kan förklaras, är det en stark indikation på att en ovanlig hemoglobinvariant eller annan analytisk interferens påverkar resultatet från minst den ena metoden. Olika metodprinciper är känsliga för olika former av analytisk interferens, och det finns ingen HbA<sub>1c</sub>-metod som är helt fri från risken av ett felaktigt analysresultat. I Tabell 2 sammanfattas några tillstånd att ha i åtanke vid tolkning av avvikande HbA<sub>1c</sub>-resultat för enskilda patienter.

För diagnostik av diabetes finns alltid möjlighet att använda både glukoskoncentration i plasma och peroral glukosbelastning om HbA<sub>1c</sub>-värdet är svårtol-

**TABELL 2.** Förslag till tolkning och handläggning av oväntat låga eller höga HbA<sub>1c</sub>-värden.

Mekanism	Kliniska tillstånd	Förslag till åtgärd	Storlek på felvisning	Metodberoende
<b>Oväntat lågt HbA<sub>1c</sub></b>				
Blodbildning ej i balans	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Graviditet</li> <li>● Postoperativt</li> <li>● Behandling av anemi</li> <li>● Erytropoetinbehandling</li> </ul>	Avvakta	Varierande men vanligen ringa	Nej
Ökad erythrocytomsättning	Hemolys	Analys av haptoglobin, laktatdehydrogenas, retikulyocyter; vid behov följt av riktad utredning	Kan vara avsevärd	Nej
Ökad halt av fetalt hemoglobin (HbF)	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Neonatalt</li> <li>● Vissa hemoglobinsjukdomar</li> <li>● I vissa fall vid annan hematologisk sjukdom</li> </ul>	Analys av hemoglobinfraktioner	Kan vara avsevärd	I princip inte, men skillnader kan ses
Förekomst av hemoglobinvariant orsakar felmätning	Andra hemoglobinvarianter än de fyra globalt dominerande	Kontrollera HbA <sub>1c</sub> med annan mätprincip	Kan vara avsevärd	Ja
Felmätning på grund av hög halt triglycerider	Uttalad hypertriglyceridemi (över ca 10 mmol/l)	Kontakta laboratoriet	Kan vara avsevärd	Ja
<b>Oväntat högt HbA<sub>1c</sub></b>				
Blodtransfusion	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Postoperativt</li> <li>● Anemibehandling</li> </ul>	Avvakta minst två månader	Varierande	Nej
Förekomst av hemoglobinvariant orsakar felmätning	Andra hemoglobinvarianter än de fyra globalt dominerande	Kontrollera HbA <sub>1c</sub> med annan mätprincip	Kan vara avsevärd	Ja
Annan analytisk interferens	Hög dos acetylsalicylsyra	Kontrollera HbA <sub>1c</sub> med annan mätprincip	Kan vara avsevärd	Ja

kat. För att bedöma glukosbalans och glukosvariabilitet har man för vissa patienter i dag tillgång till subkutan glukosmätningar, antingen med intermittenta skanning (isCGM) eller som realtidsmätningar (rtCGM). Om HbA<sub>1c</sub>-värdet inte stämmer kan beräkningar av medelglukosvärde och TIR (time in range) eller alternativa markörer som fruktosamin vara av värde att utvärdera för uppföljning av glukossänkande behandling.

### HbA<sub>1c</sub> och framtiden

Mätning av HbA<sub>1c</sub> kommer att utgöra en av de viktigaste biokemiska analyserna för diagnostik och behandlingsuppföljning av diabetes för lång tid framåt.

Det är viktigt att den svenska traditionen med strikta kvalitetsmål för HbA<sub>1c</sub>-analyser bevaras när antalet alternativa metoder och fabriker ökar på marknaden. Laboratorierna behöver samla kunskap och utbyta erfarenheter om analytiska interferenser och andra faktorer som kan påverka HbA<sub>1c</sub>-resultaten. Den diagnostiska arsenalen behöver också utökas för att möta individer med kraftigt avvikande erythrocytomsättning, vilka aldrig kommer att kunna få HbA<sub>1c</sub>-resultat som avspeglar glukosbalansen. ○

- Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Citera som: *Läkartidningen*. 2020;117:20001

## REFERENSER

- Lilja M, Hellgren M, Jansson S. Diagnos och behandlingsmål vid diabetes typ 2. *Läkartidningen*. 2018;115:EYWX.
- Rawshani A, Rawshani A, Franzén S, et al. Risk factors, mortality, and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2018;379(7):633-44.
- Arnqvist H, Wallensteen M, Jeppsson JO. Standard spikad för långtidsmätt på blodsocker. *Läkartidningen*. 1997;94:4789-90.
- EurA1c Trial Group. EurA1c: the European HbA1c trial to investigate the performance of HbA1c assays in 2166 laboratories across 17 countries and 24 manufacturers by use of the IFCC model for quality targets. *Clin Chem*. 2018;64(8):1183-92.
- González-Lao E, Cortez Z, Simon M, et al; European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Working Group on Biological Variation and Task Group for the Biological Variation Database. Systematic review of the biological variation data for diabetes related analytes. *Clin Chim Acta*. 2019;488:61-7.
- Little RR, Rohlfing CL. Analytical goals for HbA1c: are HbA1c results good enough for optimal use? *J Diabetes*. 2011;3(1):3-6.
- Gallagher EJ, Le Roith D, Bloomgarden Z. Review of hemoglobin A(1c) in the management of diabetes. *J Diabetes*. 2009;1(1):9-17.
- English E, Idris I, Smith G, et al. The effect of anaemia and abnormalities of erythrocyte indices on HbA1c analysis: a systematic review. *Diabetologia*. 2015;58(7):1409-21.
- Borg R, Persson F, Siersma V, et al. Interpretation of HbA1c in primary care and potential influence of anaemia and chronic kidney disease: an analysis from the Copenhagen Primary Care Laboratory (CopLab) Database. *Diabet Med*. 2018;35(12):1700-6.
- Campbell L, Pepper T, Shipman K. HbA1c: a review of non-glycaemic variables. *J Clin Pathol*. 2019;72(1):12-9.
- Nielsen LR, Ekbom P, Damm P, et al. HbA1c levels are significantly lower in early and late pregnancy. *Diabetes Care*. 2004;27(5):1200-1.
- Mosca A, Paleari R, Dalfra MG, et al. Reference intervals for hemoglobin A1c in pregnant women: data from an Italian multicenter study. *Clin Chem*. 2006;52(6):1138-43.
- Lurie S, Mamet Y. Red blood cell survival and kinetics during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2000;93(2):185-92.
- Rhea JM, Roberts-Wilson TK, Molinaro RJ. Impact of hemoglobin variants on HbA1c interpretation: do we assume too much? *MLO Med Lab Obs*. 2012;44(6):8, 10, 12 passim; quiz 20.
- Pratumvinit B, Reesukumal K, Hanyongyuth S, et al. Hemoglobin A1c levels are slightly but significantly lower in normoglycemic subject with the hemoglobin E phenotypes. *Ann Lab Med*. 2019;39(2):209-13.
- Danese E, Montagnana M, Salvagno GL, et al. Can we still trust hemoglobin A1c in all situations? *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(1):e241-2.
- Rhea JM, Molinaro R. Pathology consultation on HbA(1c) methods and interferences. *Am J Clin Pathol*. 2014;141(1):5-16.
- Larsson A, Breimer L. Anpassa utredningen av diabetes hos patienter med invandrabakgrund. *Läkartidningen*. 2018;115:FFIZ.
- Weykamp CW, Penders TJ, Siebelder CW, et al. Interference of carbamylated and acetylated hemoglobins in assays of glycohemoglobin by HPLC, electrophoresis, affinity chromatography, and enzyme immunoassay. *Clin Chem*. 1993;39(1):138-42.
- Gils C, Reinholdt B, Andreassen BD, et al. False increase of glycated hemoglobin due to aspirin interference in Tosoh G8 analyzer. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(5):e118-20.
- Nordin G. Inga jämförbara laboratorieresultat. *Läkartidningen*. 2014;111:CXT4.

## SUMMARY

## When you have doubts regarding HbA1c results

Compared to the 1990s when HbA1c was established as a marker for glycemic control, the accuracy of the HbA1c assays has greatly improved and HbA1c is currently used also for the diagnosis of type 2 diabetes. For most patients, the agreement is excellent between glycemic status and HbA1c results achieved by various methods. However, for patients with increased erythrocyte turnover, HbA1c does not reflect the glycemic status. For patients with rare haemoglobin variants the HbA1c value might be falsely decreased or increased, depending on which HbA1c assay has been used. Recently, falsely increased HbA1c results due to aspirin interference in an ion-exchange method were reported. When misleading results are suspected comparison of results from different HbA1c methods using different analytical principles or continuous glucose monitoring might be useful. HbA1c is likely to remain the most important marker for glycemic control, but complementary tests have to be established.