

## **HbA1c-Messung – Und die Diabetes im Griff**

Xtra Austria | August 2012 | Nr. 10

Diabetes ist weltweit als Krankheit mit epidemischen Ausmaßen anerkannt. Schätzungen zufolge wird es im Jahr 2030 weltweit insgesamt 366 Millionen Diabetiker geben (Quelle: Tosoh). Die Bedeutung des HbA1c als Indikator für die Einstellung der Diabetes hat mit der steigenden Zahl von Patienten zugenommen. Für viele Laboratorien bedeutet dies eine extreme Herausforderung an die Kapazitäten.

Die Messung des glykierten Hämoglobins, dem HbA1c, ist Standard für die Langzeitkontrolle des Blutzuckerspiegels. Das HbA1c zeigt den durchschnittlichen Blutzuckerspiegel der letzten 120 Tage an. Besonders wichtig bei der Bestimmung des HbA1c-Wertes ist ein präzises Messgerät. Hierbei hat die High Performance Liquid Chromatographie (HPLC) Methode gegenüber nasschemischen Methoden den Vorteil, auch Hämoglobinvarianten zu erkennen und damit für alle Patienten einen korrekten Wert zu liefern. Die HPLC-Methode hat sich als der goldene Standard im Diabetesmonitoring herausgestellt.

### **Was ist HPLC?**

Eine Chromatographie erlaubt die Auftrennung eines Stoffgemisches in seine einzelnen Bestandteile. Für diese Auftrennung benötigt man eine mobile Phase, in der die zu bestimmenden Bestandteile löslich sind, sowie eine stationäre Phase, eine Matrix, durch die die mobile Phase fließen muss. Beim Durchfließen interagieren die gelösten Stoffe der mobilen Phase mit der stationären Phase. Daraus ergeben sich mehr oder weniger starke Bindungen. Je stärker die Bindung ist, desto langsamer kann der Stoff durch die Matrix fließen. Die Unterscheidung zwischen den einzelnen Stoffen wird aufgrund der Laufzeit der einzelnen Stoffgruppen vorgenommen.

Die Chromatographie kann unterschieden werden in Planare Chromatographie, bei der die Matrix auf einer ebenen Fläche aufgetragen ist, und in die Säulenchromatographie. Bei der Flüssigkeits-Säulenchromatographie ist die Matrix in eine Säule eingebracht. Die zu bestimmenden Stoffe durchfließen diese Säule mit einem bestimmten Druck.

Bei der HPLC-Methode wird das Probenmaterial in die Säule eingebracht und mit Hilfe verschiedener Eluent-Buffer wieder aus der Säulenmatrix ausgespült. Aufgrund der unterschiedlich starken Bindung der Bestandteile der Probe an die stationäre Phase und der Verwendung von verschiedenen Puffern erfolgt die Eluierung der verschiedenen Fraktionen der Probe zeitlich versetzt. In dieser Versuchsanordnung erfolgt die Eluierung der HbA1c-Fraktion im Zeitfenster von 0,57 bis 0,61 Minuten und ist

somit deutlich von den benachbarten Fraktionen zu unterscheiden. Beim Austritt aus der Säule werden die Fraktionen von einem Sensor aufgezeichnet und quantitativ erfasst. Die einzelnen Fraktionen werden als eine Funktion der Zeit als Chromatogramm dargestellt. Aus diesem Chromatogramm werden die einzelnen Fraktionen prozentual von HbA angegeben.

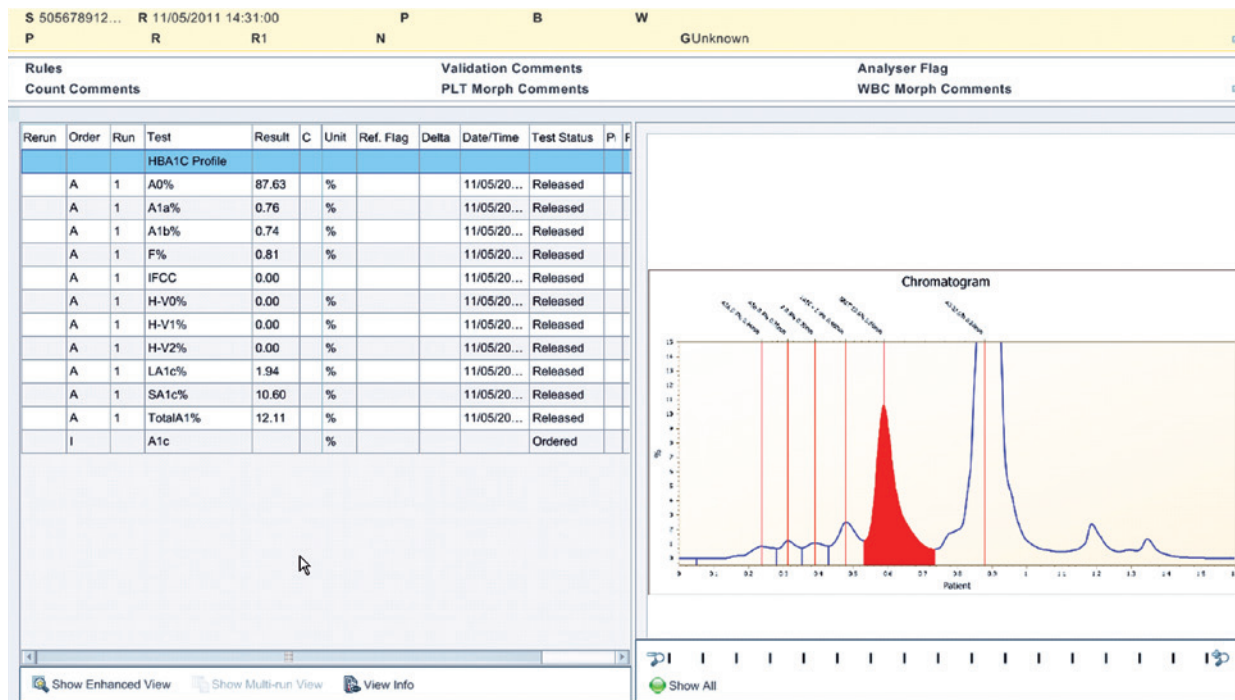


Abb. 1 Bildschirmansicht der Extended IPU: Aus dem Chromatogramm werden die einzelnen Fraktionen prozentual ausgegeben.

### Tosoh

Tosoh Bioscience ist Marktführer im Bereich der Flüssigchromatographie mit Schwerpunkt Bioseparation. Gegründet als TosoHaas im Jahr 1987 hat sich das ursprüngliche Joint Venture zwischen Tosoh Corporation (Japan) und Rohm and Haas (USA) zum Synonym für fortschrittliche Produkte entwickelt. Im Jahr 2000 wurde es eine hundertprozentige Tochtergesellschaft von Tosoh Corporation mit Verkauf, Marketing und technischen Service-Niederlassungen in den USA, Deutschland und Japan. Tosoh Bioscience GmbH und die diagnostische Schwestergesellschaft Tosoh Bioscience NV sind eines von mehreren Spezialchemie-Gruppen innerhalb der Tosoh-Corporate-Familie.

Tosoh Bioscience bietet Lösungen für Forschung, Medikamentenentwicklung, klinische Chemie, Umweltanalytik, Produktion und andere industrielle Anwendungen. Das Produktportfolio umfasst eine umfangreiche Palette von Medien und HPLC-Säulen für alle Arten der Flüssigchromatographie. Neben HPLC-Geräten liefert Tosoh auch eine große Anzahl an Autoimmun-Analysatoren.

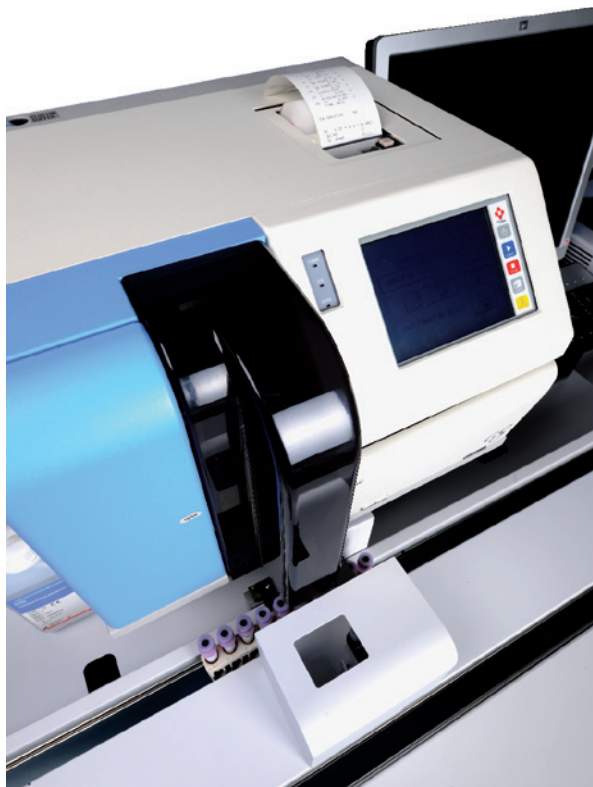
### **Tosoh G8**

Als Nachfolger des Tosoh G5 und G7 ist der G8 nun noch kompakter und robuster geworden. Die Zuverlässigkeit und Bedienerfreundlichkeit wurden nochmals verbessert. Der neue G8 bietet den schnellsten verfügbaren Durchsatz. Mit HbA1c-Ergebnissen in nur 1,6 Minuten bei gleichzeitiger Hb-Varianten-Erkennung bietet er somit die ideale Lösung für schnelle und zuverlässige Überwachung von Diabetikern. Die tieferegreifende Untersuchung von Hämoglobin-Varianten kann durch einen Moduswechsel in den Beta-Thalassämie-Modus erreicht werden. Hier werden die Bestandteile feiner aufgetrennt, denn der Lauf erstreckt sich über 6 Minuten. Als Ergebnis erhält man die Werte HbF und HbA2 sowie die Differenzierung zwischen den einzelnen Hb-Varianten.

Der G8 wird vollständig in das Sysmex XN-9000-Konzept integriert. Die von Tosoh entwickelte PIANO-Software wird über das XN-Software-Konzept (Extended IPU) abgebildet. Somit können Ergebnisse und Chromatogramme jederzeit wiedergefunden und nochmals betrachtet werden.

Der G8 benötigt vom Anwender keinerlei tägliche Wartung oder Vorbereitung, zudem erfolgen die Spülung der Säule und des restlichen Systems automatisch. Lediglich der Reagenztausch, der Säulentausch und der Vorfilterwechsel sind vom Anwender durchzuführen. Diese Tätigkeiten sind allerdings unkompliziert und innerhalb weniger Minuten ohne Werkzeug und mit einfachen Handgriffen erledigt. In der Vollautomation können verschiedene Varianten von Probenröhrchen benutzt werden. Natürlich kann der Verschluss der Blutröhrchen sowie der Deckel der Cups geschlossen bleiben, da der Analyser über einen sehr guten Cup-Piercing-Mechanismus verfügt.

Dank des integrierten Barcodelesers und der EDV-Schnittstelle können die Ergebnisse bidirektional an die Extended IPU gesendet werden. Auch vom Anwender vollständig konfigurierbare Warnmeldungen werden in die Extended IPU übertragen. Diese Flags können z. B. vor möglichen Varianten oder einem geringen Probenvolumen warnen, sowie eine Überschreitung der Normwerte anzeigen und als Grundlage für eine Autovalidations-Regel genutzt werden.



**Abb. 2** Integriert in das XN-9000-Konzept ermöglicht der Tosoh G8 einen schnellen Workflow für HbA1c, ohne die Routinehämatologie zu verlangsamen.

Das wichtigste Bauteil des Analysers ist die Chromatogramm-Säule. Bei der Säule des G8 handelt es sich um eine TSKgel-Säule. TSKgel-Säulen für Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie sind für ihre Qualität und Zuverlässigkeit bekannt. Mehr als 500 wissenschaftliche Publikationen mit TSKgel-Säulen, beweisen ihre hervorragende Qualität und modernste Technik.

Die Tosoh TSKgel-Säule ist sehr hochwertig und robust. So gibt es eine Garantie, dass eine HbA1c-Säule optimale Ergebnisse für mindestens 2.500 Injektionen liefert. Nach diesen 2.500 Injektionen ist die Säule nicht zwangsläufig verbraucht. Erfahrungswerte zeigen, dass eine Säule durchschnittlich 6.000 – 8.000 Injektionen verträgt. Manche Anwender berichten auch, dass ihre Säulen mit bis zu 20.000 Injektionen noch gute Ergebnisse liefern (Quelle: Tosoh). HbA1c-Ergebnisse werden mit weniger als 1% CV direkt ermittelt und können bis auf 2 Dezimalstellen genau erfasst werden. Damit ist der Tosoh G8 das präziseste HPLC-Gerät zur HbA1c-Bestimmung am Markt.

Die Ergebnisse werden durch vorhandene Hämoglobinvarianten oder -derivate wie labile HbA1c und carbamyliertes oder acetyliertes Hämoglobin nicht beeinflusst. Die Separation labiler A1c von stabiler A1c wird ohne Präzisions- oder Auflösungsverlust und ohne Manipulation der Probe oder die Verwendung mathematischer Algorithmen erreicht. Die HbA1c-Ergebnisse sind gemäß NGSP/DCCT und IFCC zertifiziert und können wahlweise als NGSP oder IFCC oder gemeinsam ausgegeben werden.

Sollten Sie noch Fragen zum neuen Tosoh G8 HPLC-Analysegerät haben, wenden Sie sich jederzeit gerne an uns.