

بررسی صحت اندازه‌گیری هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) توسط دستگاه (Clover A1c Self Analyzer) در مقایسه با روش‌های استاندارد

رامش حسیخانی^۱، آوات فیضی^۲، زهرا ملاباشی^۳، مجتبی اکبری^۴، امیررضا تربتیان^۵، منصور سیاوش^۶

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: با توجه به اینکه HbA1c شاخص مهم در تشخیص دیابت و کنترل طولانی‌مدت آن است، روش‌های متعددی برای اندازه‌گیری آن وجود دارد. این مطالعه با هدف تعیین مطابقت اندازه‌گیری هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) توسط دستگاه کلاور سلف A1c در مراکز سلامت استان اصفهان با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) صورت گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی با ماهیت همبستگی، از ۹۹ بیمار نمونه‌گیری صورت گرفت، از هر بیمار سه نمونه خون (یک نمونه خون وریدی و دو نمونه خون مویرگی) گرفته شد. اندازه‌گیری HbA1c از نمونه خون وریدی با استفاده از روش استاندارد HPLC و از نمونه‌های مویرگی دست راست و چپ با استفاده از دستگاه کلاور سلف A1c انجام شد. مطابقت اندازه‌گیری‌های حاصل از دو دستگاه با ضریب (Intraclass Correlation Coefficient) ICC و روش Bland-Altman صورت گرفت.

یافته‌ها: مقایسه‌ی نتایج گزارش شده از دو دستگاه نشان داد، میانگین HbA1c سرمی اندازه‌گیری شده با دستگاه $5.0/1 \pm 0.97$ می‌باشد. همچنین میانگین HbA1c اندازه‌گیری شده توسط دستگاه کلاور سلف در دست راست $5.1/29 \pm 0.7$ و این میانگین در دست چپ $5.1/28 \pm 0.7$ می‌باشد. میزان تطابق اندازه‌گیری از نمونه‌های دو دست توسط دستگاه کلاور سلف با روش مرجع $ICC = 0.928$ می‌باشد ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی حاضر بیانگر تطابق خوب بین نتایج حاصل از دو روش است و اعتبار اندازه‌گیری HbA1c با دستگاه کلاور سلف را تأیید کرد.

واژگان کلیدی: هموگلوبین گلیکوزیله؛ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا؛ دستگاه کلاور سلف A1

ارجاع: حسیخانی رامش، فیضی آوات، ملاباشی زهرا، اکبری مجتبی، تربتیان امیررضا، سیاوش منصور. بررسی صحت اندازه‌گیری هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) توسط دستگاه (Clover A1c Self Analyzer) در مقایسه با روش‌های استاندارد. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۳؛ ۴۲ (۷۹۵): ۱۱۱۴-۱۱۲۲.

مقدمه

جهان می‌باشد که سالانه بار اقتصادی سنگینی بر سیستم سلامت جامعه تحمیل می‌نماید (۲). گزارشات نشان می‌دهد در سال ۲۰۱۶ حدود ۱۰/۸ درصد افراد بالای ۲۵ سال در ایران به دیابت مبتلا بوده‌اند و در سال ۲۰۲۰ این میزان به ۱۴/۱۵ درصد رسیده است (۳). شواهد بالینی نشان‌دهنده‌ی ارتباط مستقیم عوارض ناشی از دیابت ۱ و ۲ با کنترل وضعیت گلیسمیک در بیماران بوده از این رو کنترل دقیق قندخون برای مدیریت بیماری و پیشگیری از عوارض آن

دیابت، یک بیماری مزمن متابولیک است که به علت کاهش ترشح انسولین از پانکراس و یا کاهش پاسخ ارگان‌ها به آن بروز پیدا می‌کند و به دلیل افزایش قندخون و دیگر اختلالات متابولیک، عوارض ماکرووواسکولار و میکرووواسکولار متعدد، مانند مشکلات قلبی-عروقی، نفروپاتی و رتینوپاتی را در پی دارد (۱). این بیماری یکی از شایع‌ترین و پر هزینه‌ترین بیماری‌های متابولیک در ایران و سرتاسر

۱- دکترای حرفه‌ای پزشکی، مسئول پیشگیری و کنترل بیماری‌های قلبی-عروقی و دیابت معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دکترای زیست سلولی-مولکولی، کارشناس پژوهشی معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دکترای اپیدمیولوژی مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- کارشناس علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- استاد، فوق تخصص غدد و متابولیسم، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: منصور سیاوش؛ استاد، فوق تخصص غدد و متابولیسم، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: siavash@med.mui.ac.ir

روش‌های سنجش آنزیمی و سنجش ایمنونوشیمیایی به دسته‌ی دوم تعلق دارند.

روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High performance HPLC (liquid chromatography) یک روش صحیح و دقیق برای سنجش HbA1c است و به عنوان روش مرجع در نظر گرفته می‌شود (۹). روش HPLC گران قیمت است و کار کردن با آن زمان بر بوده و همچنین نیاز به نیروی انسانی ماهر دارد و بنابراین همه جا به آسانی در دسترس نمی‌باشد. از طرفی سایر روش‌های دارای گواهینامه NGSP می‌توانند به عنوان روش مرجع ثانویه در نظر گرفته شوند.

دستگاه کلاورسلف A1C (Clover A1c Self Analyzer) که در ادامه به صورت کلاورسلف ارائه می‌گردد یکی از انواع دستگاه‌های سنجش HbA1c است که توسط کمپانی اینفویپا و در کشور کره جنوبی ساخته شده است. بنا بر ادعای شرکت سازنده، این دستگاه میزان HbA1c و قند موجود در خون را به طور دقیق و با استفاده از روش مؤثر اسپکتروفتومتری که یکی از مؤثرترین روش‌های موجود در این زمینه است، ارزیابی می‌کند. همچنین انجمن دیابت آمریکا (ADA (American diabetes association) در گایدلاین ۲۰۲۳ خود اشاره به تأیید اندازه‌گیری HbA1c به روش سریع (Point of care) توسط FDA نموده است (۱۰).

سیستم دستگاه کلاورسلف، یک سنجش میل ترکیبی بورونات کاملاً خودکار برای تعیین درصد هموگلوبین A1C در خون کامل انسان است. کارتریج آزمایشی دستگاه کلاورسلف از یک کارتریج و یک بسته معرف حاوی معرف‌های لازم برای تعیین هموگلوبین A1c، با یک پایه جمع‌آوری برای جمع‌آوری نمونه خون تشکیل شده است. یک معرف از قبل با محلول واکنش و محلول شستشو پر شده. محلول واکنش شامل عوامل لیزکننده‌ی گلبول قرمز و همچنین رزین بورونات است که به طور اختصاصی، به ترتیب به گلبول‌های قرمز و هموگلوبین‌های گلیکوزیله متصل می‌شوند. نمونه خون ۴ میکرولیتری در پایه مخصوص بسته معرف جمع‌آوری می‌شود و سپس وارد کارتریج می‌گردد. اکنون کارتریج در دستگاه کلاورسلف قرار می‌گیرد. در این زمان، گلبول قرمز بلافاصله لیز شده و رزین بورونات به هموگلوبین‌های گلیکوزیله متصل می‌شود. کارتریج مونتاژ شده در آنالایزر دستگاه کلاورسلف وارد می‌شود و به گونه‌ای می‌چرخد که مخلوط نمونه خون در ناحیه‌ی اندازه‌گیری کارتریج قرار می‌گیرد، جایی که مقدار هموگلوبین کل در نمونه خون به صورت فوتومتریک با استفاده از یک حس‌گر فوتو الکتریک انعکاسی که شامل یک دیود ساطع‌کننده‌ی نور (LED) و یک فوتودیود (PD-) Photo Diode) است، اندازه‌گیری می‌شود. سپس کارتریج ترکیبی چرخانده می‌شود تا محلول شستشو، هموگلوبین‌های غیرگلیکوزیله را

ضروری است. بیشترین تست‌هایی که برای این منظور استفاده می‌شود شامل اندازه‌گیری سطح قند خون (در آزمایشگاه، با گلوکومتر و یا مونیتورینگ پیوسته) و اندازه‌گیری هموگلوبین گلیکوزیله است. اندازه‌گیری قندخون وضعیت فعلی گلوکز خون بیمار را نشان می‌دهد در حالیکه برای دانستن وضعیت واقعی تنظیم گلوکز خون در بلندمدت، معمولاً از اندازه‌گیری HbA1c استفاده می‌شود (۴).

HbA1c زمانی تشکیل می‌شود که گلوکز به اسید آمینه والین در N-terminal زنجیره‌ی بنای هموگلوبین متصل گردد. گلیکاسیون (glycation)، یک فرایند غیر آنزیمی و خود به خودی است، بنابراین این واکنش تنها به غلظت گلوکز، زمان و سطح هموگلوبین بستگی دارد و از آنجایی که گلبول‌های قرمز حدود ۱۰۶ روز در گردش خون هستند، شاخص HbA1c نشان دهنده‌ی میانگین غلظت گلوکزی است که هموگلوبین‌های خون در طول دوره ۱۰۶ روز (در حدود سه ماه) در معرض آن بوده‌اند و در نتیجه برای ارزیابی طولانی‌مدت قندخون و مداخله‌ی به موقع به منظور پیشگیری از عوارض مرتبط با دیابت از شاخص HbA1c استفاده می‌شود (۵، ۶). امروزه بیشتر سازمان‌های بالینی جهانی HbA1c معادل ۶/۵-۷ درصد را به عنوان محدوده‌ی هدف برای کنترل قندخون در اغلب بیماران بالغ مبتلا به دیابت توصیه می‌کنند.

در سال ۱۹۹۳ از زمان بررسی نتایج مطالعات کارآزمایی بالینی کنترل دیابت و عوارض آن (The diabetes control and complications trial) و مشاهده‌ی پراکندگی زیاد نتایج HbA1c با ضریب انحراف ۱۶/۵ درصد برای یک متد لزوم استانداردسازی HbA1c مورد توجه قرار گرفت و از سال ۱۹۹۶ برای یکسان نمودن روش‌ها و یکنواخت نمودن نتایج، برنامه‌ی ملی استاندارد سازی گلیکوهموگلوبین (The National Glycohemoglobin Standardization Program) NGSP تشکیل گردید و در حال حاضر در آمریکا تولیدکنندگان سیستم‌های اندازه‌گیری HbA1c ملزم به هماهنگ نمودن متد خود با متدهای مورد تأیید (NGSP) می‌باشند (۷).

امروزه روش‌های زیادی برای اندازه‌گیری HbA1c وجود دارد. اتصال گلوکز به هموگلوبین موجب تغییر بار الکتریکی، خواص ایمنونولوژیک و حرکت الکتروفورزی هموگلوبین می‌گردد. بر همین اساس روش‌های اندازه‌گیری HbA1c به دو گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شوند. گروه اول بر اساس جداسازی HbA1c از سایر انواع هموگلوبین و گروه دوم بر اساس واکنش شیمیایی یا ایمنی خاص با والین گلیکیده انتهای زنجیره β استوار است (۸).

کروماتوگرافی تبادل یونی، الکتروفورز مویریگی (Capillary electrophoresis) و کروماتوگرافی میل ترکیبی به دسته‌ی اول و

(بیماران مبتلا به نارسایی کلیه بر اساس میزان GFR محاسبه شده شناسایی شدند به طوریکه با GFR کمتر از ۶۰ به عنوان بیمار مبتلا به نارسایی کلیه در نظر گرفته شد و سنجش شاخص GFR طبق فرمول CKD-EPI-Equations for GFR محاسبه گردید. در فرمول شاخص GFR جنس، سن و کراتینین سرم در نظر گرفته می‌شود.

بیماران مبتلا به بیماری کبدی، بر اساس میزان FIB4، شناسایی شده‌اند به طوری که $FIB4 > 1.3$ به عنوان بیمار مبتلا به بیماری کبدی در نظر گرفته شد، سنجش این شاخص بر اساس فرمول $FIB4 - index$ محاسبه شده است که در این فرمول سن، آنزیم‌های کبدی ALT و AST و میزان پلاکت در نظر گرفته می‌شود.

بیماران مبتلا به آنمی (اختلالات هموگلوبین) نیز بر اساس میزان هموگلوبین شناسایی شده‌اند، به طوریکه هموگلوبین کمتر از ۱۲ در زنان و کمتر از ۱۴ در مردان به عنوان آنمی در نظر گرفته می‌شود.

نمونه‌ی خون مویرگی به میزان $4 \mu L$ از یکی از انگشتان دست راست و یکی از انگشتان دست چپ گرفته و توسط لوله‌های موئینه جمع‌آوری و در دستگاه کلاورسلف A1C سنجش شد.

محاسبه‌ی نسبت هموگلوبین گلیکوزیله به کل هموگلوبین:

$$HbA1C = A * \frac{HbA1c}{Total\ hemoglobin} * 100 + B$$

A و B ضریب شیب و رهگیری برای تصحیح مقدار استاندارد کالیبراسیون NGSP هستند.

داده‌ها پس از جمع‌آوری وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۷ (version 27, IBM Corporation, Armonk, NY) شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌های کمی بصورت میانگین \pm انحراف معیار و داده‌های کیفی بصورت تعداد (درصد) گزارش شدند. جهت بررسی نرمال بودن توزیع متغیرهای کمی از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. برای ارزیابی پایایی اندازه‌های بدست آمده از دو دستگاه، از ضریب همبستگی درون خوشه‌ای (ICC) استفاده گردید در کل نمونه و در بیماران کلیوی، بیماران دارای کم خونی و بیماری کبدی جداگانه ارزیابی شد. مقادیر بالای ۰/۹ یعنی هماهنگی عالی، ۰/۸ تا ۰/۹ هماهنگی بسیار خوب، ۰/۶ تا ۰/۸ خوب، ۰/۴ تا ۰/۶ متوسط و کمتر از ۰/۴ هماهنگی ضعیف می‌باشد (۱۱). مقایسه‌ی میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی بین زنان و مردان با آزمون t دو نمونه مستقل انجام شد. مقایسه‌ی اندازه‌های بدست آمده در مورد شاخص HbA1C بین مبتلایان و غیر مبتلایان به بیماری کلیوی، کبدی و کم خونی نیز با آزمون t دو نمونه مستقل انجام شد. ارزیابی توافقی اندازه‌های حاصل از دو دستگاه بصورت بصری با نمودار Bland-Altman (نمودار ۱) انجام شد. در تمامی تحلیل‌ها سطح معنی‌داری کوچکتر از ۰/۰۵ و توان آماری ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

از نمونه خون شستشو دهد تا مقدار هموگلوبین گلیکوزیله به‌صورت فوتومتریک اندازه‌گیری شود.

از مزایای این دستگاه می‌توان به این مورد اشاره کرد که تمام اتوماتیک است، در نتیجه با یک قطره کوچک خون از نوک یکی از انگشتان دست در عرض ۱۰ دقیقه حاضر می‌شود، اندازه‌گیری آن یک مرحله‌ای است و دارای تأییدیه NGSP می‌باشد.

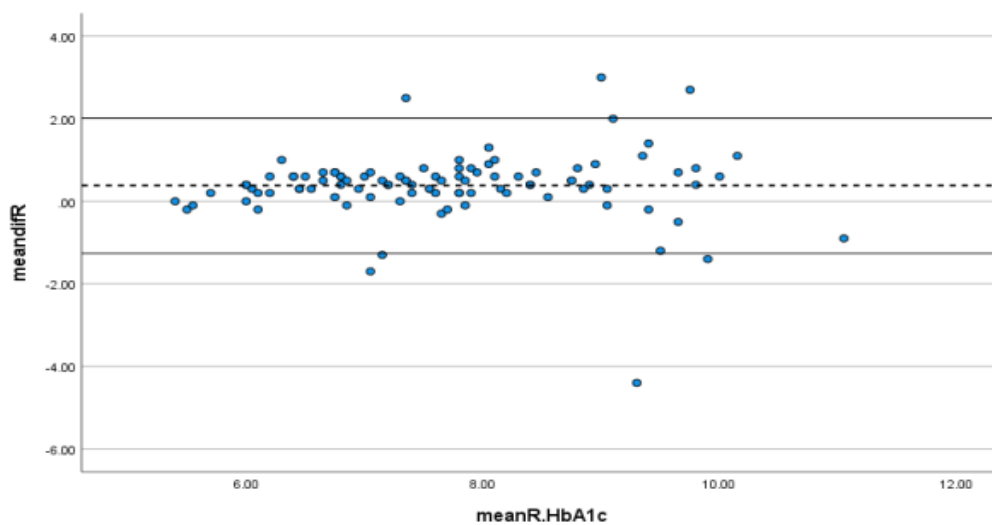
هدف ما در این مطالعه، بررسی هماهنگی و اعتبار دستگاه کلاورسلف با روش مرجع (کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا، HPLC) می‌باشد. در مراکز خدمات جامع سلامت استان اصفهان که افراد مبتلا به دیابت تحت نظر هستند، به منظور کنترل دیابت از دستگاه کلاورسلف هم جهت اندازه‌گیری HbA1c استفاده می‌شود.

روش‌ها

در این پژوهش مقطعی با ماهیت همبستگی که به منظور تعیین شاخص‌های تشخیصی دستگاه کلاورسلف، جهت تشخیص HbA1c در مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم علوم پزشکی اصفهان صورت گرفت، ۹۹ بیمار ۳۰ سال به بالا مبتلا به دیابت، با رضایت آگاهانه وارد مطالعه شدند. معیار ورود به مطالعه، بیماران مبتلا به دیابت ۳۰ سال به بالا با رضایت آگاهانه بود. بیماران هیچ یک از معیارهای خروج از مطالعه شامل (ابتلا به بیماری قلبی-عروقی، افراد مصرف‌کننده‌ی داروی خاص مانند سالیسیلات، افراد با انتقال خون در سه ماه گذشته) را نداشتند.

روش اجرا و اندازه‌گیری متغیرها

این مطالعه دارای تأییدیه اخلاق از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با کد اخلاق IR.ARI.MUI.REC.1402.079 است. از هر فرد مراجعه‌کننده به دو روش نمونه‌گیری صورت گرفت. نمونه‌گیری وریدی و نمونه‌گیری مویرگی، نمونه‌ی خون وریدی به میزان ۸cc گرفته شد. از این میزان ۳cc در تیوب‌های حاوی EDTA (برای CBC و HbA1c) جمع‌آوری شد و در شرایط استاندارد نگهداری و سپس به آزمایشگاه تشخیص طبی نوبل ارسال گردید و در آنجا میزان HbA1c نمونه‌های وریدی توسط دستگاه مرجع کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا سنجش شد. همچنین ۵cc برای اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی دیگر به شکل لخته تهیه گردید که به منظور تعیین validity دستگاه کلاورسلف در سنجش HbA1c در بیماران دارای نارسایی کلیه، کبدی و اختلالات هموگلوبین، (کراتینین) Cr، (آسپاراتات آمینو ترانسفراز) AST، (آلانین آمینو ترانسفراز) ALT و (شمارش کامل سلول‌های خونی) CBC بیماران نیز اندازه‌گیری شد و در این بیماران میزان HbA1c ثبت شده و بین دو دستگاه مقایسه و آنالیز گردید.



نمودار ۱. Bland-Altman نشان دهنده‌ی این است که اغلب نقاط در یک قسمت و بیانگر تطابق می‌باشد

در کل نمونه‌ها $1/50 \pm 7/97$ و در زنان و مردان به ترتیب $1/24 \pm 7/84$ ، $1/41 \pm 7/98$ می‌باشد. میانگین HbA1c با دستگاه کلاورسلف روی دست راست $1/29 \pm 7/5$ با میزان کمینه $5/4$ و بیشینه 11 می‌باشد و در زنان و مردان به ترتیب $1/11 \pm 7/32$ و $1/50 \pm 7/82$ می‌باشد؛ همچنین میانگین HbA1c با دستگاه کلاورسلف روی دست چپ $1/28 \pm 7/5$ با میزان کمینه $5/4$ و بیشینه 11 و در زنان و مردان به ترتیب $1/11 \pm 7/39$ و $1/48 \pm 7/91$ به دست آمد. میانگین HbA1c با دستگاه کلاورسلف در کل نمونه‌ها $1/28 \pm 7/55$ می‌باشد. مقایسه‌ی سایر شاخص‌های بیوشیمیایی بین زنان و مردان در جدول ۲ آمده است.

ج) مقایسه‌ی میانگین HbA1c اندازه‌گیری شده در دو روش (دستگاه HPLC و کلاورسلف A1C در هر دو دست) و مقایسه‌ی آن در بیماران با و بدون مشکلات کلیوی، کبدی و آنمی بدین صورت می‌باشد:

میانگین HbA1c با دستگاه HPLC در افراد با بیماری کلیوی $1/16 \pm 7/95$ و در افرادی که بیماری کلیوی ندارند $1/33 \pm 7/53$ می‌باشد و میانگین HbA1c با دستگاه کلاورسلف (میانگین نتایج دست راست و چپ) در افراد دارای بیماری کلیوی $1/03 \pm 7/39$ و در افرادی که بیماری کلیوی ندارند $1/27 \pm 7/57$ می‌باشد. مقایسه سایر میانگین‌ها در بیماران کبدی و آنمی در جدول ۳ آمده است.

د) میزان تطابق دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع (در کل نمونه‌ها، مرد و زن و هر دو دست)

میزان تطابق دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع از نظر متوسط دست راست و چپ با دستگاه مرجع $0/938$ با کمینه $0/913$ و بیشینه $0/957$ می‌باشد ($P < 0/001$). (همانگونه که در بخش تحلیل آماری

یافته‌ها

در این مطالعه، نتایج در چهار بخش اطلاعات دموگرافیک، مقایسه‌ی متغیرهای بیوشیمیایی و میانگین HbA1c در دو دستگاه، میزان تطابق دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع و میزان تطابق دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع در بیماری کبدی، کلیوی و آنمی ارایه می‌گردد:

الف) اطلاعات دموگرافیک

تعداد ۹۹ بیمار وارد مطالعه شدند از این تعداد ۳۷ نفر مرد با میانگین سنی ($63/91 \pm 7/43$) سال و ۶۲ نفر زن با میانگین سنی ($62/83 \pm 8/66$) سال بودند. میانگین طول مدت دیابت (سال) در کل نمونه‌ها $8/21 \pm 14/02$ سال که در مردان $13/78 \pm 7/43$ سال و در زنان $8/7 \pm 14/16$ سال می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱. اطلاعات دموگرافیک بیماران

جنس	تعداد نمونه	سن (سال) میانگین \pm انحراف معیار	طول مدت دیابت (سال) میانگین \pm انحراف معیار
مرد	۳۷	$63/91 \pm 7/43$	$13/78 \pm 7/43$
زن	۶۲	$62/83 \pm 8/66$	$14/16 \pm 8/7$
کل	۹۹	$63/24 \pm 9/44$	$14/02 \pm 8/21$

ب) مقایسه‌ی متغیرهای بیوشیمیایی و میانگین HbA1c بین زنان و مردان

مقایسه‌ی میانگین حاصل از دوبار اندازه‌گیری با دستگاه کلاورسلف و مقایسه میانگین حاصل از دو روش HPLC and cloverself نشان می‌دهد که میانگین HbA1c با دستگاه HPLC

جدول ۲. مقایسه‌ی متغیرهای بیوشیمیایی بین زنان و مردان

شاخص‌های بیوشیمیایی	کل نمونه	جنسیت		P
		زن	مرد	
هموگلوبین A1C با دستگاه HPLC * (درصد)	۷/۹۷ ± ۱/۵۰	۷/۸۴ ± ۱/۲۴	۷/۹۸ ± ۱/۴۱	۰/۰۰۱°
هموگلوبین A1C دست راست (دستگاه کلاورسلف A1) *	۷/۵۱ ± ۱/۲۹	۷/۳۲ ± ۱/۱۱	۷/۸۲ ± ۱/۵۰	۰/۰۰۱°
هموگلوبین A1C دست چپ (دستگاه کلاورسلف A1)	۷/۵۹ ± ۱/۲۸	۷/۳۹ ± ۱/۱۱	۷/۹۱ ± ۱/۴۸	۰/۰۰۱°
میانگین هموگلوبین A1C دست راست و چپ (دستگاه کلاورسلف A1)	۷/۵۵ ± ۱/۲۸	۷/۳۵ ± ۱/۰۳	۷/۸۷ ± ۱/۴۸	۰/۰۰۱°
کراتینین (دسی‌لیتر/میلی‌گرم)	۱/۰۱ ± ۰/۱۹	۰/۹۴ ± ۰/۱۸	۱/۱۱ ± ۰/۱۵	۰/۰۰۱°
پلاکت (میکرولیتر)	۲۳۱/۵۵ ± ۵۶/۳۰	۲۴۵/۵۳ ± ۵۴/۴۱	۲۰۸/۱۱ ± ۵۲/۰۶	۰/۰۰۱°
هموگلوبین (دسی‌لیتر/گرم)	۱۳/۶۶ ± ۱/۴۸	۱۳/۱۸ ± ۱/۳۲	۱۴/۴۷ ± ۱/۶۵	۰/۰۰۱°
آسپارات آمینو ترانسفراز (u/L)	۲۲/۲۱ ± ۷/۵۵	۲۱/۹۴ ± ۷/۹۳	۲۲/۶۷ ± ۷/۵	۰/۶۴۰
آلانین آمینو ترانسفراز (u/L)	۱۸/۴۷ ± ۴/۱۱	۱۸/۷۶ ± ۴/۲۷	۱۸ ± ۳/۸۴	۰/۳۷۸
تست ارزیابی فیروز کبد (point، امتیاز)	۱/۱۷ ± ۰/۴۳	۱/۱۱ ± ۰/۳۸	۱/۲۷ ± ۰/۴۸	۰/۰۷۸
فیلتراسیون گلومرولی (دقیقه/میلی‌لیتر) (mL/min/1.73m ²)	۷۳/۰۲ ± ۱۳/۵۳	۷۱/۰۶ ± ۱۲/۷۳	۷۶/۳۰ ± ۱۴/۳۴	۰/۰۶۲

*: منظور از هموگلوبین A1C دست راست و A1C دست چپ و متوسط دست راست و چپ، اندازه‌گیری توسط دستگاه کلاورسلف A1 است. منظور از اندازه‌گیری هموگلوبین A1C با روش HPLC اندازه‌گیری سرمی آن است.

جدول ۳. مقایسه‌ی میانگین HbA1c در دو دستگاه و در هر دست و در مبتلایان و غیر مبتلایان به بیماری‌های کلیوی، کبدی، آنمی

شاخص‌های بیوشیمیایی	بیماری کلیوی			بیماری کبدی			آنمی	
	دارد	ندارد	P	دارد	ندارد	P	دارد	ندارد
تعداد	۱۴	۸۴	-	۳۶	۶۲	-	۳۷	-
هموگلوبین A1C با روش HPLC	۷/۹۵ ± ۱/۱۶	۷/۹۶ ± ۱/۵۵	۰/۹۶۴	۷/۵۷ ± ۱/۱۵	۸/۲۰ ± ۱/۶۳	۰/۰۴۴	۸/۳۶ ± ۱/۶۹	۷/۷۲ ± ۱/۳۲
هموگلوبین A1C دست راست (دستگاه کلاورسلف A1)	۷/۴۰ ± ۱/۰۴	۷/۶۲ ± ۱/۳۲	۰/۷۴۸	۷/۱۷ ± ۱/۱۵	۷/۷۱ ± ۱/۳۳	۰/۰۴۳	۷/۸۵ ± ۱/۳۷	۷/۳۰ ± ۱/۲۰
هموگلوبین A1C دست چپ (دستگاه کلاورسلف A1)	۷/۳۴ ± ۱/۰۳	۷/۶۲ ± ۱/۳۲	۰/۵۱۵	۷/۲۴ ± ۱/۱۹	۷/۷۹ ± ۱/۳۰	۰/۰۳۹	۷/۹۸ ± ۱/۴۲	۷/۳۵ ± ۱/۱۴
متوسط دست راست و چپ (دستگاه کلاورسلف A1)	۷/۳۹ ± ۱/۰۳	۷/۵۷ ± ۱/۲۷	۰/۶۱۳	۷/۲۰ ± ۱/۱۶	۷/۷۵ ± ۱/۲۴	۰/۰۳۳	۷/۹۱ ± ۱/۳۸	۷/۳۳ ± ۱/۱۰

*: منظور از هموگلوبین A1C دست راست و A1C دست چپ و متوسط دست راست و چپ، اندازه‌گیری توسط دستگاه کلاورسلف A1 است. منظور از اندازه‌گیری هموگلوبین A1C با روش HPLC اندازه‌گیری سرمی آن است.

میزان تطابق دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع در افرادی که بیماری کلیوی دارند از نظر متوسط دست راست و چپ با دستگاه مرجع ۰/۹۱۹ با میزان کمیته ۰/۰۶۰ - و بیشینه ۰/۹۸۴ می‌باشد. میزان تطابق دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع در افرادی که بیماری کلیوی ندارند از نظر متوسط دست راست و چپ با دستگاه مرجع ۰/۹۰۶ با میزان کمیته ۰/۸۲۹ و بیشینه ۰/۹۴۵ می‌باشد (جدول ۵). سایر مقایسه‌ها در بیماران کبدی و آنمی در جدول آمده است (جدول ۵). ۸۱ درصد نمونه‌ها به دست آمده توسط دستگاه کلاورسلف در سطح کمتر از ۱۰ درصد، تفاوت با HPLC قرار دارند (در ۸۱ درصد از نمونه‌ها میزان خطا کمتر از ۱۰ درصد است).

متد اشاره شده است برای ارزیابی میزان مطابقت و هماهنگی مقادیر قرائت شده توسط دو دستگاه از شاخص ICC استفاده شده است که مقادیر بالای ۰/۹ حاکی از میزان عالی هماهنگی می‌باشد و از طرفی P اعلام شده برای همین شاخص است و معنی‌داری آن یعنی همبستگی بین مقادیر ثبت شده توسط دو دستگاه معنی‌دار و از صفر تفاوت معنی‌دار دارد، در ارزیابی هماهنگی اندازه‌ها با شاخص ICC صرفاً تمرکز بر ارزیابی هماهنگی عملکرد است. سایر مقایسه‌ها به تفکیک زن و مرد در جدول ۴ آمده است. (میزان تطابق دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع (در بیماران کلیوی، کبدی و آنمی)

جدول ۴. میزان تطابق مقدار HbA1c اندازه‌گیری شده با دستگاه کلاورسلف و دستگاه مرجع (در کل نمونه‌ها، مرد و زن و هر دو دست)

میزان تطابق	کل نمونه	زن	مرد
تطابق میانگین دست راست و چپ با دستگاه کلاورسلف و دستگاه مرجع	۰/۹۳۸ (۰/۹۱۳ - ۰/۹۵۷)	۰/۹۰۶ (۰/۸۵۶ - ۰/۹۴۰)	۰/۹۷۰ (۰/۹۴۸ - ۰/۹۸۳)
تفاوت*	۰/۱۷	۰/۵۱	۰/۱۱
تطابق دست راست با دستگاه کلاورسلف و دستگاه مرجع	۰/۸۸۳ (۰/۸۲۵ - ۰/۹۲۱)	۰/۸۲۴ (۰/۷۰۷ - ۰/۸۹۴)	۰/۹۴۷ (۰/۸۹۷ - ۰/۹۷۳)
تفاوت	۰/۳۸	۰/۵۱	۰/۱۵
تطابق دست چپ با دستگاه کلاورسلف و دستگاه مرجع	۰/۹۲۶ (۰/۸۱۰ - ۰/۹۵۰)	۰/۹۲۴ (۰/۸۷۴ - ۰/۹۵۵)	۰/۹۳۸ (۰/۸۷۹ - ۰/۹۶۸)
تفاوت	۰/۳۰	۰/۴۴	۰/۰۶

* در این جدول تفاوت ذکر شده در هر ردیف مربوط به تطابق ردیف بالاتر از آن می‌باشد.

جدول ۵. میزان تطابق دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع (بر اساس بیماری کلیوی، کبدی و آنمی)

تطابق HbA1c HPLC با دستگاه کلاورسلف	بیماری کلیوی		بیماری کبدی		آنمی	
	دارد	ندارد	دارد	ندارد	دارد	ندارد
R HbA1c	۰/۹۲۱ (۰/۰۳۵ - ۰/۹۸۴)	۰/۸۵۷ (۰/۷۵۴ - ۰/۹۱۳)	۰/۸۷۵ (۰/۶۸ - ۰/۹۴۴)	۰/۸۵۱ (۰/۷۲۹ - ۰/۹۱۵)	۰/۸۱۹ (۰/۶۶۰ - ۰/۸۹۹)	۰/۹۱۶ (۰/۸۰۸ - ۰/۹۶۰)
L HbA1c	۰/۹۱۵ (۰/۰۷ - ۰/۹۸۳)	۰/۹۱۴ (۰/۸۵۴ - ۰/۹۴۷)	۰/۸۵۵ (۰/۶۹۷ - ۰/۹۲۸)	۰/۹۳۴ (۰/۸۶۴ - ۰/۹۶۴)	۰/۸۹۷ (۰/۷۷۱ - ۰/۹۴۷)	۰/۹۲۸ (۰/۸۵۹ - ۰/۹۳۶)
Mean R LHbA1c	۰/۹۱۹ (۰/۰۶۰ - ۰/۹۸۴)	۰/۹۰۶ (۰/۸۲۹ - ۰/۹۴۵)	۰/۸۷۰ (۰/۷۰۱ - ۰/۹۳۹)	۰/۹۱۸ (۰/۸۲۵ - ۰/۹۵۷)	۰/۸۴۴ (۰/۷۳۷ - ۰/۹۴۱)	۰/۹۳۱ (۰/۸۵۲ - ۰/۹۶۶)

* در این جدول بررسی تطابق HbA1c با HPLC و دستگاه کلاورسلف در دست راست و چپ و میانگین دو دست، در بیماران کلیوی، کبدی و آنمی نشان داده شده است.

در سال ۲۰۱۴، Davari Edalat Pana و همکاران، دو روش آنزیماتیک و ایمونوتوربیدومتری را مقایسه کردند و نتایج تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (۹).

مطالعه‌ی دیگری در سال ۲۰۱۴ توسط Karami و Baradaran صورت گرفت. روش Dianzyme نسبت به روش Nycocrd (پیوند با میل ترکیبی برونات) و Biosystem (کروماتوگرافی میکروستونی) برتری داشت، چرا که میانگین آن به روش مرجع، روش HPLC نزدیک‌تر بود (۱۲).

در سال ۲۰۱۶، Jalali و همکاران، پنج روش اندازه‌گیری HbA1c که شامل روش‌های میکروکپیلاری الکتروفورز، روش آنزیمی، ایمونوتوربیدومتری، کروماتوگرافی تمایلی برونات و ایمونوفلورسانس را با روش مرجع HPLC مقایسه نمودند و نتایج میکروکپیلاری الکتروفورز و روش آنزیمی را به عنوان روش جایگزین HPLC معرفی کردند (۱۳).

در مطالعه‌ی خدا بنده شهرکی و همکاران در سال ۲۰۲۲، نمونه خون یک داوطلب را در ۳۷ آزمایشگاه در شهر اصفهان به صورت تصادفی و کور بررسی کردند. روش‌های کاپیلاری الکتروفورز، ایمونوتوربیدومتری و آنزیماتیک از دقت مطلوبی برخوردار بودند و بالاترین دقت سنجنش HbA1c در مقایسه با روش مرجع HPLC مربوط به کاپیلاری الکتروفورز بود (۱۴).

بحث

هموگلوبین گلیکوزیله، یکی از انواع مختلف هموگلوبین و بیومارکر استاندارد دیابت است. این مارکر وضعیت گلیسمی فرد را در طول سه ماه ارزیابی می‌نماید، از آنجایی که عمر گلبول قرمز در خون ۹۰-۱۲۰ روز است، بنابراین HbA1c بیانگر میانگین میزان گلوکز خون در مدت سه ماه می‌باشد و این میزان نوسان ندارد. HbA1c در سطوح طبیعی کمتر از ۵/۷ درصد است و غلظت بیش از ۶/۵ درصد دیابت را نشان می‌دهد.

در این مطالعه که با هدف تعیین هماهنگی و تطابق شاخص هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) اندازه‌گیری شده توسط دستگاه کلاورسلف در استان اصفهان با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) انجام شد؛ میانگین (HbA1c) اندازه‌گیری شده توسط دستگاه مرجع و دستگاه کلاورسلف نزدیک بود و تطابق بسیار خوبی نشان داد.

اعتبار دستگاه کلاورسلف A1C در اندازه‌گیری HbA1c در بیماران دارای نارسایی کلیه، بیماران کبدی و اختلالات هموگلوبین در این مطالعه تأیید شد.

تاکنون مطالعاتی در راستای مقایسه‌ی روش‌های مختلف سنجنش HbA1c با روش مرجع صورت گرفته که در زیر به برخی از آنها اشاره می‌نمایم.

به طور کلی می‌توان گفت دستگاه کلاورسلف می‌تواند جایگزین خوب و قابل قبولی برای اندازه‌گیری HbA1c در زمان مناسب و در مطالعه‌ی ما برای گروه هدف با دسترسی آسان‌تر و هزینه‌ی کمتر باشند. همچنین پیشنهاد می‌گردد در راستای مطالعه‌ی حاضر تعرفه‌ی اندازه‌گیری تست HbA1c که به عنوان تست مراقبت دیابت در کتاب ارزش‌های نسبی موجود نیست، آورده شود تا تعرفه‌ی این تست تحت پوشش بیمه قرار گیرد. اگرچه در ADA 2023 اندازه‌گیری HbA1c با دستگاه مذکور جهت غربالگری و تشخیص دیابت هم توسط FDA (Food and Drug Administration) تأیید شده است.

از نقاط ضعف مطالعه می‌توان به این نکته اشاره کرد که مطالعه می‌توانست با گروه شاهد یعنی بررسی تست HbA1c در افراد سالم نیز مقایسه شود و صحت آن نیز در افراد سالم تأیید گردد. همچنین تعداد نمونه‌ی بیشتر، دقت مطالعه را بیشتر می‌کرد به ویژه در بیماری‌هایی که در مقاله مدنظر قرار گرفته بود.

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر بیانگر تطابق عالی بین نتایج حاصل از دو دستگاه می‌باشد که اعتبار دستگاه کلاور سلف تأیید گردید.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۲۴۰۲۳۹ می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، تصویب و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تقدیر و تشکر می‌شود.

در مطالعه‌ی مشابه مطالعه ما در سال ۲۰۲۳ در کشور هند انجام گرفت صحت و دقت دو تست Rapid Hemocue Hb 501 و SD Biosensor با دستگاه کلاورسلف مایع با کارایی بالا (HPLC) مقایسه شد. این مطالعه در دو مکان انجام گرفت، بخش درمانی بیمارستان عمومی دانشکده پزشکی در منطقه‌ی شهری و مرکز بهداشت اولیه در منطقه‌ی روستایی در هند. از ۱۱۴ بیمار وارده، همگی تست (HPLC) را انجام دادند. ۱۰۳ بیمار تست Hemocue Hb 501 و ۱۱۰ بیمار تست SD Biosensor را دریافت کردند.

در نتیجه تست‌های مراقبت تجاری در این مطالعه قابل قیاس بود و جایگزینی مناسب برای اندازه‌گیری‌های مبتنی برای HPLC برای ارزیابی کنترل گلیسمی بودند (۱۵).

در مطالعه‌ی مشابه دیگری که در سال ۲۰۲۰ توسط Arnold و همکاران صورت گرفت، مطالعه‌ای در مورد نتایج آزمون تشخیصی POC (Point of care) برای اندازه‌گیری سطح HbA1c در بیماران انجام دادند. نتایج نشان داد، آزمون POC با استفاده از هر دو نوع نمونه خون وریدی و مویرگی دقیق است و با استانداردهای عملکرد NGSP مطابقت داشت (۱۶).

تطابق بالا در نتایج دستگاه کلاورسلف با دستگاه مرجع (HPLC)، در اندازه‌گیری هموگلوبین A1C نشان‌دهنده‌ی صحت و دقت این دستگاه در اندازه‌گیری متغیر HbA1c است و می‌توان به طور قابل اعتماد در تشخیص و مدیریت بیماری دیابت از نتایج آن استفاده نمود. همچنین تأیید اعتبار دستگاه کلاورسلف در اندازه‌گیری هموگلوبین A1C در سه گروه بیمار مورد مطالعه، مدیریت بیماران مبتلا به دیابت با شرایط مختلف سلامتی بر اساس نتایج حاصل از این دستگاه را امکان‌پذیر می‌نماید.

References

- Selby NM, Taal MW. An updated overview of diabetic nephropathy: Diagnosis, prognosis, treatment goals and latest guidelines. *Diabetes Obes Metab* 2020; 22(Suppl 1): 3-15.
- Park J, Zhang P, Wang Y, Zhou X, Look KA, Bigman ET. High out-of-pocket health care cost burden among Medicare beneficiaries with diabetes, 1999–2017. *Diabetes Care* 2021; 44(8): 1797-804.
- Khamsch ME, Sepanlou SG, Hashemi-Madani N, Joukar F, Mehrparvar AH, Faramarzi E, et al. Nationwide prevalence of diabetes and prediabetes and associated risk factors among Iranian adults: analysis of data from PERSIAN cohort study. *Diabetes Ther* 2021; 12(11): 2921-38.
- Evans M, Welsh Z, Ellis S, Seibold A. The impact of flash glucose monitoring on glycaemic control as measured by HbA1c: a meta-analysis of clinical trials and rweal-world observational studies. *Diabetes Ther* 2020; 11(1): 83-95.
- English E, Lenters-Westra E. HbA1c method performance: the great success story of global standardization. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018; 55(6): 408-19.
- Su JB, Zhao LH, Zhang XL, Cai HL, Huang HY, Xu F, et al. HbA1c variability and diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients. *Cardiovasc Diabetol* 2018; 17(1): 47.
- Little RR, Rohlfing CL, Sacks DB. Status of hemoglobin A1c measurement and goals for improvement: from chaos to order for improving diabetes care. *Clin Chem* 2011; 57(2): 205-14.
- Saiedullah M, Ferdoush M, Begum S, Rahman MR, Sarkar A, Ahmad A. Studies on subfractions of hemoglobin A1 in diabetic subjects. *Diab Endocr J* 2009; 38(Suppl 1): 20.
- Davari Edalat Pana S, Tousi N, Rahimi L, Sabouri G. Comparison of Two Methods for Measurement of

- HbA1c in Two University Hospital of Mshhad. Patient Saf Qual Improv 2015; 3(3): 262-5.
10. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2023. Diabetes Care 2023; 46(Suppl 1): S19-S40.
 11. Cicchetti DV. Guidelines, criteria, and rules of thumb for evaluating normed and standardized assessment instruments in psychology. Psychological Psychological Assessment 1994; 6(4): 284-90.
 12. Karami A, Baradaran A. Comparative evaluation of three different methods for HbA1c measurement with High-performance liquid chromatography in diabetic patients. Adv Biomed Res 2014; 3: 94.
 13. Jalali MT, Shahbazian HB, Afsharmanesh MR, Mousavi Dehmordi R, Saki A. Evaluation of accuracy, precision and agreement of five HbA1c measurement methods with HPLC reference method. Med Lab J 2016; 10(2): 58-64.
 14. Khodabandeh-Shahraki P, Akbari M, Tabatabaee A, Mobasherizadeh S, Siavash M, The accuracy of Glycosylated Hemoglobin a Index Measurement in Medical Laboratories in Isfahan City [in Persian]. J Isfahan Med Sch 2022; 40(673): 368-74.
 15. Khodanga S, Singh G, Pakhare P, Joshi R, Diagnostic accuracy of point-of-care tests measuring glycosylated hemoglobin (HbA1C) for glycemic control :a field study in India. Cureus 2021; 13(9): e17920.
 16. Arnold WD, Kupfer K, Little RR, Amar M, Horowitz B, Godbole N, et al. Accuracy and Precision of a Point-of-Care HbA1c Test. J Diabetes Sci Technol 2020; 14(5): 883-9.

Evaluation of the Accuracy of the Glycated Hemoglobin (HbA1c) Index Measured by the Clover A1c Self Analyzer Device Compared to Standard Methods

Ramesh Hosseinkhani¹, Awat Feizi², Zahra Mollabashi³, Mojtaba Akbari⁴, Amir Reza Torbatian⁵, Mansour Siavash⁶

Original Article

Abstract

Background: Given that HbA1C is a critical indicator in the diagnosis and control of diabetes, various methods exist for its measurement. This study aimed to determine the accuracy of the HbA1C index measured by the Clover A1c self analyzer device in health centers of Isfahan province compared to the HPLC method.

Methods: In this cross-sectional study, samples were taken from 99 patients. Three blood samples were taken from each patient: one venous blood sample and two capillary blood samples. The HbA1C measurement from the venous blood sample was performed using the standard HPLC method, while the capillary blood samples from the right and left hands were measured using the Clover A1c self analyzer device. The concordance of the measurements from the two devices was assessed using the Intra-cluster correlation coefficient (ICC) and the Bland-Altman method.

Findings: A comparison of the results reported by the two devices showed that the mean serum HbA1C measured by the reference device was 7.97 ± 1.50 . The mean HbA1C measured by the Clover Self device on the right hand was 7.51 ± 1.29 , and the mean on the left was 7.59 ± 1.28 . The concordance of the measurements from both hands by the Clover Self device with the reference device was $ICC = 0.938$ with a 95% confidence interval (0.913 - 0.957) ($P < 0.001$).

Conclusion: The results of the present study indicate excellent concordance between the results obtained from the two devices, confirming the validity of the Clover Self device.

Keywords: Glycated hemoglobin; Chromatography; High pressure liquid; Clover A1c Self analyzer

Citation: HosseinkhaniR, Feizi A, Mollabashi Z, Akbari M, Torbatian AR, Siavash M. **Evaluation of the Accuracy of the Glycated Hemoglobin (HbA1c) Index Measured by the Clover A1c Self Analyzer Device Compared to Standard Methods.** J Isfahan Med Sch 2025; 42(795): 1114-22.

1- General Practitioner, Prevention and Control of Cardiovascular Diseases and Diabetes Office, Isfahan Province Health Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

2- Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

3- PhD in Cellular and Molecular Biology Research expert, Isfahan Province Health Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

4- PhD in Epidemiology, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Centre (IEMRC), School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Bachelor of Clinical Laboratory, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

6- Professor, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Corresponding Author: Mansour Siavash, Professor, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: siavash@med.mui.ac.ir