DOI: 10.48305/jims.v40.i673.0368

مجله دانشکده پزشکی اصفهان | سال چهلم/شماره‌ی ۶۷۳/هفته‌ی اول مرداد ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۷ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۱۲ | تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۵/۷

مقدار صحت اندازه‌گیری شاخص هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی سطح شهر اصفهان

پریسا خدابنده شهرکی[۱]، مجتبی اکبری[۲]، عالیه طباطبایی[۳]، سینا مباشری زاده[۴]، منصور سیاوش[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: با توجه به اینکه امروزه از شاخص HbA1c به عنوان یک معیار تشخیص ابتلا به دیابت و همچنین پایش طولانی‌مدت قند خون استفاده می‌شود، دقت و صحت اندازه‌گیری آن اهمیت زیادی دارد. هدف از این مطالعه، بررسی روش‌های اندازه‌گیری شاخص HbA1c رایج در آزمایشگاه‌های شهر اصفهان و مقایسه‌ی صحت نتایج آن‌ها با روش مرجع بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی، از نمونه‌ی خون یک داوطلب، در سه لوله‌ی مجزا برای ۳۷ آزمایشگاه ارسال شد. از میان آن‌ها، دو آزمایشگاه این شاخص را با روش HPLC انجام می‌دادند و به عنوان مرجع در نظر گرفته شدند. برای هر آزمایشگاه ضریب تغییرات با هدف نمایش و مقایسه‌ی میزان پراکندگی محاسبه شد. برای مقایسه‌ی نتایج روش‌های مختلف اندازه‌گیری HbA1c با روش مرجع از آزمون one-way ANOVA و آزمون تعقیبی Bonferroni استفاده شد.

یافته‌ها: مقایسه‌ی نتایج گزارش شده توسط آزمایشگاه‌ها با نتایج روش مرجع نشان داد که ۶۰ درصد آزمایشگاه‌ها مقدار HbA1c را خارج از بازه‌ی مجاز ارائه کردند و گزارش نامطلوب داشتند. میانگین و انحراف معیار و بازه‌ی شاخص ضریب تغییرات (Coefficient of variation) CV به ترتیب ۰/۰۲ و ۰/۰۴ (از ۰/۶۵ الی ۲۵/۱۸ درصد) بودند. مقایسه‌ی نتایج روش‌های مختلف با روش مرجع نشان داد که کاپیلاری الکتروفورز، ایمونوتوربیدومتری و آنزیماتیک از دقت مطلوبی برخوردار هستند. روش‌هایی که کم‌ترین دقت اندازه‌گیری را داشتند به ترتیب نفلومتری و کروماتوگرافی ستونی بودند.

نتیجه‌گیری: با وجود استانداردسازی روش‌های اندازه‌گیری HbA1c، هنوز گزارش نتایج مختلف از یک نمونه‌ی خون وجود دارد. بر اساس یافته‌های این مطالعه، بعد از روش HPLC، روش کاپیلاری الکتروفورز، نتایج قابل قبول‌تری نسبت به سایر روش‌ها ارائه می‌کند.

واژگان کلیدی: هموگلوبین گلیکوزیله؛ دیابت؛ اندازه‌گیری؛ مقدار صحت

ارجاع: خدابنده شهرکی پریسا، اکبری مجتبی، مباشری زاده سینا، سیاوش منصور. **مقدار صحت اندازه‌گیری شاخص هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی سطح شهر اصفهان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۷۲): ۳۷۴-۳۶۸

مقدمه

دیابت، یک بیماری با شیوع بالا و همراه با عوارض میکروواسکولار (Microvascular) و ماکروواسکولار (Macrovascular) شامل عوارض قلبی- عروقی، نفروپاتی، نوروپاتی و رتینوپاتی است (۱، ۲). در سراسر جهان، دیابت و عوارض آن بخش بزرگی از بودجه‌ی سلامت را به خود اختصاص می‌دهند و بار اقتصادی زیادی را بر دوش سیستم سلامت متحمل می‌کنند (۳). در سال ۲۰۱۶، حدود ۱۰/۳ درصد جمعیت بالای ۳۰ سال در ایران به دیابت مبتلا بوده‌اند (٤) و طبق مقاله‌ای که در سال ۲۰۲۰ چاپ شده، ۱٤/۱ درصد افراد در شهر یزد مبتلا به دیابت بودند (۵). از طرفی عوامل خطر دیابت مانند اضافه وزن، چاقی و سبک زندگی بی‌تحرک در ایران شیوع بالایی دارد، بنابراین می‌توان انتظار داشت که آمار بیماران مبتلا به

۱- کارشناس ارشد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دکتری اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳ -کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دکتری میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- استاد غدد درون ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: منصور سیاوش: استاد غدد درون ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: siavash@med.mui.ac.ir

دیابت دائماً در ایران افزایش بیابد (٤).

نتایج مطالعه‌ی آزمایش کنترل دیابت و عوارض آن DCCT (The diabetes control and complications trial) و مطالعه‌ی آینده‌نگر دیابت در انگلستان (The United Kingdom Prospective Diabetes Study) UKPDS نشان داد که کنترل شدید گلیسمی به طور قابل توجهی عوارض بلندمدت دیابت نوع ۱ و ۲ را کاهش می‌دهد (٦).

HbA1c زمانی تشکیل می‌شود که گلوکز به اسید آمینه والین در N ترمینال زنجیره بتا مولکول هموگلوبین متصل شود. فرایند گلیکوزیله شدن به طور غیرآنزیمی اتفاق می‌افتد در نتیجه تنها به زمان غلظت گلوکز و سطح هموگلوبین بستگی دارد (۷). به طور کلی تصور می‌شود که گلبول‌های قرمز تقریباً ۱۰٦ روز در گردش هستند و بنابراین، HbA1c نشان‌دهنده‌ی میانگین غلظت گلوکزی است که هموگلوبین‌های خون در یک دوره‌ی تقریباً ۱۰٦ روزه در معرض آن قرار می‌گیرد. با توجه به این‌که اندازه‌گیری قند خون، وضعیت فعلی گلوکز خون بیمار را نشان می‌دهد، برای مشاهده‌ی وضعیت واقعی تنظیم گلوکز خون و داشتن شاخص غلظت گلوکز خون در بلندمدت، HbA1c اندازه‌گیری می‌شود (۸). ارزیابی HbA1c و مداخله‌ی به موقع می‌تواند از بروز بسیاری از عوارض مرتبط با دیابت جلوگیری کند (۹). علاوه بر نظارت بر کنترل قند خون افراد مبتلا به دیابت، سطح HbA1c توسط انجمن دیابت آمریکا (American Diabetes Association) ADA به عنوان یک شاخص برای تشخیص دیابت معرفی شده است (۷).

با اندازه‌گیری HbA1c و تعیین اهداف درمانی ویژه بر اساس HbA1c اندازه‌گیری شده، می‌توان روند درمان را بهتر و کارآمدتر کنترل کرد. امروزه، بیشتر سازمان‌های بالینی دیابت در سطح جهان، HbA1c معادل ۷-٦/۵ درصد را به عنوان محدوده‌ی هدف برای کنترل گلیسمی در بیماران مبتلا به دیابت توصیه می‌کنند (۱۰). روش‌های زیادی برای اندازه‌گیری HbA1c وجود دارد. روش‌های اندازه‌گیری HbA1c شامل روش‌های کروماتوگرافی بر اساس بار (کروماتوگرافی تعویض یونی) (Cation-exchange chromatography)، کروماتوگرافی تمایلی مانند کروماتوگرافی تمایلی برونات (Boronate affinity chromatography)، ایمونواسی‌ها (Immunoassay)، آنزیمی و الکتروفورزی است (۱۱). روش کروماتوگرافی با کارآیی بالا (HPLC) یک روش صحیح و دقیق برای اندازه‌گیری HbA1c است و به عنوان روش مرجع به کار می‌رود. دستگاه HPLC گران قیمت بوده و کار با آن سخت و زمان‌بر است. از همین رو آزمایشگاه‌های تشخیص طبی به سراغ آن نمی‌روند. علاوه بر این، روش‌های دارای گواهینامه‌ی (The National Glycohemoglobin Standardization Program) NGSP نیز می‌توانند به عنوان روش مرجع ثانویه به کار گرفته شوند. NGSP اولین بار در سال ۱۹۹٦ برای استانداردسازی نتایج، اندازه‌گیری HbA1c به اجرا درآمد. آزمایشگاه‌های مرجع ثانویه که در فرایند صدور گواهینامه‌ی NGSP نقش دارند از روش‌های تجاری اندازه‌گیری HbA1c موجود استفاده می‌کنند (٦). مطالعات بسیاری به مقایسه‌ی این روش‌ها پرداختند و نتایج این مطالعات نشان داد که به سختی می‌توان روش دیگری را جایگزین HPLC کرد (۱۲-۱٦). با این حال با توجه به این‌که استفاده از روش استاندارد طلایی HPLC برای همه‌ی آزمایشگاه‌ها مقدور نیست، باید برای اندازه‌گیری دقیق و صحیح HbA1c استانداردترین و نزدیک‌ترین روش‌ها به روش مرجع استفاده شوند. در مطالعه‌ی حاضر، از دستگاه Akray AdamsHA-8160 HbA1c که با روش HPLC کار می‌کند به عنوان روش مرجع استفاده شد. Akray AdamsHA-8160 HbA1c دارای گواهینامه‌ی NGSP است، دقت بالایی داشته و نتایج آن در محدوده‌ی CV هدف (کمتر از ۲/۵ درصد) قرار دارد (۱۱). هدف این مطالعه، بررسی رایج‌ترین روش‌های مورد استفاده در شهر اصفهان برای اندازه‌گیری HbA1c و مقایسه‌ی نتایج این روش‌ها با روش مرجع بود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مقطعی (Cross-sectional)، از یک داوطلب مرد با دیابت کنترل نشده از بین افراد بزرگسال مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم با رضایت آگاهانه، ٤۰۰ میلی‌لیتر خون دریافت شد، داوطلب هیچ یک از معیارهای خروج (ابتلا به بیماری‌های هموگلوبینوپاتی، ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی، افراد مصرف‌کننده‌ی داروهای خاص مانند سالسیلات، افراد دارای کم خونی، افراد با مورد انتقال خون در سه ماهه گذشته و هموگلوبین پایین‌تر از ۱٦ گرم در دسی‌لیتر) را نداشت. نمونه‌ی خون با همکاری سازمان انتقال خون در کیسه‌ی حاوی EDTA جمع‌آوری شد. سپس جهت ارسال به آزمایشگاه‌ها، این نمونه در ۱۱۱ لوله تقسیم گردید به طوری که ۳ میلی‌لیتر خون در هر لوله قرار گرفت.

به طور کلی حدود ۹۰ آزمایشگاه در سطح شهر اصفهان وجود دارد که از بین آن‌ها، ۳۷ آزمایشگاه به صورت تصادفی ساده (Simple random sampling) انتخاب شدند و برای هر آزمایشگاه سه نمونه ارسال شد. به جهت این که آزمایشگاه‌ها نسبت به انجام این تحقیق Blind باشند و از سوگیری نتایج جلوگیری به عمل آید، نمونه‌ها با نام افراد مختلف با نسخه‌هایی که توسط پزشکان مرکز تحقیقات با سربرگ‌های متفاوت، پذیرش شدند.

این مطالعه دارای تأییدیه کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی

اصفهان با کد (IR.MUI.MED.REC.1398.511) است.

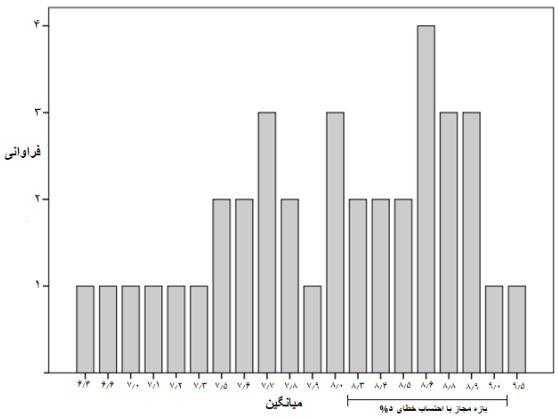
داده‌ها بعد از جمع‌آوری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ (version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌های کمی به صورت میانگین ± انحراف معیار و داده‌های کیفی به صورت تعداد و درصد گزارش شدند. برای هر آزمایشگاه «ضریب تغییرات» (Coefficient of variation) CV با هدف نمایش و مقایسه‌ی میزان پراکندگی محاسبه شد. برای مقایسه‌ی نتایج روش‌های مختلف اندازه‌گیری HbA1c با روش مرجع از آزمون one-way ANOVA و آزمون تعقیبی Bonferroni استفاده شد. در کلیه‌ی تحلیل‌ها، P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین ٦ نمونه‌ای که با روش مرجع اندازه‌گیری کردند برابر با ۰/۲۳ ± ۸/۸ (حداقل و حداکثر مقدار گزارش شده با روش مرجع: ۹/۱–۸/۵) بود. میانگین کل نمونه‌های تست شده در ۳۵ آزمایشگاه، ۰/۷۷ ± ۸/۰۵ (حداقل و حداکثر مقدار گزارش شده: ۹/۹–۵/۹) محاسبه شد (جدول ۱).

بازه‌ی ۵ درصد بیشتر و کمتر از میانگین HbA1c با روش مرجع به عنوان بازه‌ی مجاز (۹/۳–۸/٤ درصد) در نظر گرفته شد. با این حساب ۳۷/۱ درصد نمونه‌ها (۳۹ نمونه از کل ۱۰۵ نمونه تست شده) خارج از بازه‌ی مجاز برای شاخص HbA1c، گزارش شدند. برای به دست آوردن تعداد آزمایشگاه‌هایی که اعداد خارج از بازه‌ی مجاز داشتند، آزمایشگاه‌هایی که از بین سه نمونه گزارش شده بیشتر و مساوی دو مقدار را خارج از بازه‌ی مجاز گزارش کردند را به عنوان آزمایشگاه‌ها با گزارش نامطلوب فرض کردیم. با این فرض ٦۰ درصد آزمایشگاه‌ها (۲۱ آزمایشگاه از مجموع ۳۵ آزمایشگاه تست شده) مقدار شاخص HbA1c را خارج از بازه‌ی مجاز ارایه کردند و گزارش نامطلوب داشتند (شکل ۱).

شاخص CV یک شاخص پراکندگی است که برای همه‌ی ۳۵ آزمایشگاه محاسبه شد. از آن‌جایی که کم بودن پراکندگی، نشانگر همگن بودن اعداد گزارش شده است، هر چه میزان ضریب تغییرات کمتر باشد، نشان می‌دهد که اختلاف بین نتایج گزارش شده توسط یک آزمایشگاه زیاد نبوده و احتمال خطای درون آزمایشگاهی کاهش می‌یابد. میانگین و انحراف معیار و بازه این شاخص به ترتیب ۰/۰۲ و ۰/۰٤ (از ۰/٦۵ الی ۲۵/۱۸ درصد) بودند.



شکل ۱. فراوانی آزمایشگاه‌ها بر اساس میانگین HbA1c سه نمونه توسط هر آزمایشگاه

میانگین و انحراف معیار HbA1c گزارش شده به تفکیک روش در جدول ۲ گزارش شد. مقایسه‌ی نتایج روش‌های مختلف با روش مرجع نشان داد که کاپیلاری الکتروفورز و ایمونوتوربیدومتری و آنزیماتیک از دقت مطلوبی برخوردار بودند. بالاترین دقت مربوط به روش کاپیلاری الکتروفورز بود که تنها در ٦ (۱۷ درصد) آزمایشگاه‌های مورد مطالعه از این روش استفاده می‌شد. بیشتر آزمایشگاه‌های مورد مطالعه (۱۰ آزمایشگاه به عبارت دیگر، ۲۸ درصد) از روش توربیدومتری برای اندازه‌گیری HbA1c استفاده کردند. روش‌هایی که کم‌ترین دقت اندازه‌گیری (بیشترین اختلاف با روش مرجع) را داشتند به ترتیب نفلومتری و کروماتوگرافی ستونی بودند. در مجموع از بین آزمایشگاه‌های مورد مطالعه، ۳ آزمایشگاه از این دو روش برای اندازه‌گیری HbA1c استفاده کردند (جدول ۲).

جدول ۱. میانگین HbA1c و شاخص‌های پراکندگی در سه نمونه به تفکیک آزمایشگاه‌ها

آزمایشگاه‌ها بر اساس تعداد مراجعه در ماه	تعداد آزمایشگاه‌ها	میانگین مقادیر HbA1c درصد (انحراف معیار)	میانگین ضریب تغییر
<۱۰۰۰	۷	۸/۳ (۰/۹۶)	۰/۰۲۴
۱۰۰۰–۲۰۰۰	۱۳	۸/۰ (۰/۵۷)	۰/۰۳۹
۲۰۰۰–۴۰۰۰	۱۰	۷/۹ (۰/۶۶)	۰/۰۴۱
>۴۰۰۰	۵	۸/۲ (۰/۸۲)	۰/۰۱۴

جدول ۲. میانگین HbA1c و شاخص‌های پراکندگی به تفکیک روش و مقایسه‌ی روش‌های مختلف اندازه‌گیری HbA1c با روش مرجع

روش	تعداد نمونه‌ها	میانگین مقادیر (انحراف معیار) درصد HbA1c	P	تفاوت آماری معنی‌دار با استاندارد طلایی	میانگین (خطای استاندارد)
نفلومتری	۳	۷/۱۷ (۰/۱۲)	< ۰/۰۰۰۱	*	۱/۶۷ (۰/۵۰)
توربیدومتری	۶۰	۸/۰۴ (۰/۶۶)			۰/۷۹ (۰/۳۰)
آنزیماتیک	۲	۸/۱۵ (۰/۷۹)			۰/۶۸ (۰/۳۲)
کاپیلاری الکتروفورز	۱۲	۸/۵۳ (۰/۹۹)			۰/۳۱ (۰/۳۶)
کروماتو گرافی	۶	۷/۲۲ (۰/۶۸)		*	۱/۶۲ (۰/۴۱)
HPLC (روش مرجع)	۶	۸/۸۳ (۰/۲۳)			

بحث

در این مطالعه که با هدف ارزیابی روش‌های اندازه‌گیری HbA1c رایج در آزمایشگاه‌های شهر اصفهان و مقایسه‌ی صحت نتایج آن‌ها با روش مرجع انجام شد، میانگین ٦ نمونه‌ای که با روش مرجع، شاخص HbA1c را اندازه‌گیری کرده بودند، نزدیک به مقدار میانگین کل نمونه‌های تست شده در ۳۵ آزمایشگاه بود.

با این حال زمانی که بازه‌ی ۵ درصد کمتر و بیشتر از میانگین HbA1c با روش مرجع به عنوان بازه‌ی مجاز (۸/٤–۹/۳ درصد) در نظر گرفته شد، ۳۷/۱ درصد از ۱۰۵ نمونه‌ی تست شده، خارج از بازه‌ی مجاز HbA1c بود. همچنین ٦۰ درصد آزمایشگاه‌ها مقدار HbA1c را خارج از بازه‌ی مجاز ارایه کردند و گزارش نامطلوب داشتند. شاخص CV برای ۳۵ آزمایشگاه تست نشان داد که پراکندگی داده‌ها بسیار زیاد است.

مقایسه‌ی نتایج روش‌های مختلف با روش مرجع نشان داد که کاپیلاری الکتروفورز، ایمونوتوربیدومتری و آنزیماتیک از دقت مطلوبی برخوردار بودند. بالاترین دقت مربوط به روش کاپیلاری الکتروفورز بود که تنها در ۱۷ درصد (٦ آزمایشگاه) آزمایشگاه‌های مورد مطالعه از این روش استفاده می‌شد. بیشتر آزمایشگاه‌های مورد مطالعه (۲۸ درصد) از روش توربیدومتری برای اندازه‌گیری HbA1c استفاده کردند. روش‌هایی که کم‌ترین دقت اندازه‌گیری را داشتند به ترتیب نفلومتری و کروماتوگرافی ستونی بودند. در مجموع از بین آزمایشگاه‌های مورد مطالعه، ۳ آزمایشگاه از این دو روش برای اندازه‌گیری HbA1c استفاده کردند.

در ایران مطالعات اندکی جهت ارزیابی روش‌های اندازه‌گیری HbA1c صورت گرفته است. Jalali و همکاران در سال ۲۰۱٤، پنج روش اندازه‌گیری HbA1c شامل میکروکاپیلاری الکتروفورز سبیا، آنزیماتیک (کیت پیشتاز طب)، ایمونوتوربیدومتری (کیت پارس آزمون)، Nycocard و ایمونوفلورسنس (Ichroma) را با روش مرجع Tosoh G8 HPLC مقایسه کردند (۱۷). روش میکروکاپیلاری سبیا و روش آنزیمی پیشتاز طب از دقت و صحت مناسبی برخوردار بودند. بنابراین می‌توان از این روش‌ها به عنوان جایگزین روش HPLC برای اندازه‌گیری HbA1c استفاده کرد. روش‌های دیگری مانند پارس آزمون، نایکوکارد و ایکروما از نظر دقت، دارای کاستی‌های قابل توجهی هستند. (۱۷).

Razi و همکاران، شش روش اندازه‌گیری HbA1c شامل HPLC (D-10)، ایمنوتوربیدومتری پارس آزمون و COBAS INTEGRA 400، برونات افینیتی کروماتوگرافی (NycoCard Reader II) و دو دستگاه DS5، Biosystem که بر اساس کروماتوگرافی تبادل یونی کار می‌کنند، را بررسی کردند. D-10 و COBAS INTEGRA که دارای گواهینامه‌ی NGSP هستند به عنوان روش‌های مرجع مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد Biosystem کم‌ترین میانگین اختلاف را با روش‌های مرجع داشت. در حالی که پارس آزمون، بیشترین اختلاف را نشان داد (۱۸).

Karami و Baradaran، ۵۸ نمونه خون دیابتی را با سه روش Diazyme (آزمایش آنزیمی)، Nycocard (پیوند با میل ترکیبی بورونات) و Biosystem (کروماتوگرافی میکرو ستونی) ارزیابی کردند. مقادیر HbA1c هر روش با نتایج Knauer-HPLC به عنوان رفرنس مقایسه شد. در این مطالعه، Diazyme در مقایسه با دو روش دیگر عملکرد بهتر و مقادیر میانگین نزدیک‌تری به HPLC داشت و همچنین در مقایسه با دو روش دیگر، کم‌ترین Value interval را با HPLC داشت. با این حال روش آنزیمی به دلیل اینکه ضریب همبستگی Pearson، ۰/۷۵ با روش مرجع داشت، نمی‌تواند روش ایده‌آلی برای جایگزینی HPLC باشد (۱۵).

مطالعات محققان نقاط دیگر جهان نیز تأیید کردند که روش‌های مختلف اندازه‌گیری HbA1c از نظر کارآمد بودن متفاوت هستند. Halwachs-Baumann و همکاران، انواع HPLC، روش ایمونواسی Roche و سیستم‌های آنالیز Hi-auto A1C را با روش مرجع Diamat HPLC (یک اتوآنالایزر بر اساس کروماتوگرافی تبادل یونی) مقایسه کردند. آن‌ها ایمونواسی Roche را نزدیک‌ترین میانگین به روش مرجع گزارش نمودند (۱۲).

Hawkins، دقت و صحت ٤ روش اندازه‌گیری HbA1c شامل Bayer DCA 2000 ،Drew DS5 ،Biorad Diastat و Nycomed Nycocard را بررسی کرد. در این مطالعه از Roche به عنوان روش مرجع استفاده شد. ضریب همبستگی Pearson بیش از ۰/۹ برای هر چهار روش به دست آمد (۱۳).

از طرف دیگر Turpeinen و همکاران با مقایسه‌ی سه دستگاه مشاهده کردند، ضریب همبستگی Pearson بین poly CAT A (یک HPLC بر اساس کروماتوگرافی ستونی) و Diamat برابر با ۰/۳ ± ۰/۹ بود. علاوه بر این، شاخص همبستگی بین poly CAT A و IMX (بر اساس پیوند میل ترکیبی بورونات) ۰/۰٤ ± ۰/۸۵ به دست آمد. آن‌ها پیشنهاد کردند که اندازه‌گیری HbA1c باید محدود به روش مرجع Diamat باشد و نتیجه‌گیری کردند که ممکن است مشکلات جدی در پیگیری‌های بالینی بیماران در تغییر از یک روش به روش دیگر وجود داشته باشد (١٤). بنابراین در نتایج اینگونه مطالعات، تضاد وجود دارد.

Roth و همکاران به مقایسه‌ی مقادیر اندازه‌گیری شده‌ی HbA1c با استفاده از ۳ روش در ٤ آزمایشگاه برای ۷۵ بیمار مبتلا به دیابت پرداختند (١٦). از بین این چهار آزمایشگاه دو آزمایشگاه از روش TOSOH G8, HPLC استفاده کردند و در دو آزمایشگاه دیگر روش VARIANT II و COBAS INTEGRA مورد استفاده قرار گرفت. اگرچه همبستگی بالایی بین ۳ آزمایشگاه وجود داشت و هر روش، دقت خوبی را نشان داد (۳ درصد > CV's)، اختلاف مطلق قابل توجهی مشاهده شد (محدوده از ۰/۵ تا ۰/۷ درصد). همچنین با وجود اینکه دو آزمایشگاه از روش HPLC استفاده کردند، انحراف سیستمیک بین نتایج آن دو از طریق Bland-Altman-Plots مشخص شد. بنابراین، به نظر می‌رسد این انحراف سیستماتیک وابسته به روش نیست. این نتایج ممکن است تأیید کنند که با وجود اجرای موفقیت‌آمیز استانداردسازی IFCC، نمی‌توان برابری نتایج را در آزمایشگاه‌های مختلف تضمین کرد. کالیبراسیون دستگاه‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده می‌تواند مسؤول این تفاوت‌ها باشد (١٦).

نتیجه‌گیری

با وجود استانداردسازی فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی IFCC (International Federation of Clinical Chemistry)، هنوز هم امکان گزارش مقادیر متفاوت شاخص HbA1c از یک نمونه‌ی خون وجود دارد. بر اساس یافته‌های این مطالعه، بعد از روش HPLC، روش کاپیلاری الکتروفورز، نتایج قابل قبول‌تری نسبت به سایر روش‌ها ارائه می‌کند.

علت گزارشات متفاوت، می‌تواند ناشی از خطای سیستماتیک (کالیبراسیون دستگاه یا استفاده از مواد شیمیایی مختلف) یا خطای تصادفی (اشتباه انسانی اپراتور دستگاه) باشد.

پیشنهاد می‌شود، صحت روش‌های موجود اندازه‌گیری شاخص HbA1cدر ایران، به طور گسترده توسط آزمایشگاه مرجع وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، مورد ارزیابی دوره‌ای قرار گیرد. علاوه بر این، کیت‌های تشخیصی تولید ایران، باید گواهی‌های بین‌المللی معتبر از جمله NGSP را اخذ کنند. ضمناً، اجرای برنامه‌ی منظم EQA (External quality assessment) نیز می‌تواند مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم به شماره‌ی ۵۰۵۹۸ است. بدین‌وسیله از همه‌ی همکاران در مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم به ویژه خانم دکتر فاطمه سخنوری و آقای تربتیان که ما را در این پژوهش یاری کردند، سپاسگزاریم. همچنین از سازمان انتقال خون و واحد امور آزمایشگاه‌های استان معاونت درمان علوم پزشکی اصفهان، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1. 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.
2. Avogaro A, Fadini GP. Microvascular complications in diabetes: a growing concern for cardiologists. Int J Cardiol 2019; 291: 29-35.
3. 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.
4. Khamseh 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 Therapy 2021; 12(11): 2921-38.
5. Mirzaei M, Rahmaninan M, Mirzaei M, Nadjarzadeh A, Dehghani Tafti AA. Epidemiology of diabetes mellitus, pre-diabetes, undiagnosed and uncontrolled diabetes in Central Iran: results from Yazd health study. BMC Public Health 2020; 20(1): 166.
6. 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.
7. 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.

8. Evans M, Welsh Z, Ells S, Seibold A. The impact of flash glucose monitoring on glycaemic control as measured by HbA1c: a meta-analysis of clinical trials and real-world observational studies. Diabetes Ther 2020; 11(1): 83-95.
9. 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.
10. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. Diabetes Care 2021; 44(Suppl 1): S15-33.
11. Gupta S, Chauhan N, Jain U. Laboratory diagnosis of HbA1c: a review. J Nanomed Res 2017; 5(4): 00120.
12. Halwachs-Baumann G, Katzensteiner S, Schnedl W, Purstner P, Pieber T, Wilders-Truschnig M. Comparative evaluation of three assay systems for automated determination of hemoglobin A1c. Clin Chem 1997; 43(3): 511-7.
13. Hawkins RC. Comparison of four point-of-care HbA1c analytical systems against central laboratory analysis. Singapore Med J 2003; 44(1): 8-11.
14. Turpeinen U, Karjalainen U, Stenman UH. Three assays for glycohemoglobin compared. Clin Chem 1995; 41(2): 191-5.
15. 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.
16. Roth J, Müller N, Lehmann T, Böer K, Löbel S, Pum J, et al. Comparison of HbA1c measurements using 3 methods in 75 patients referred to one outpatient department. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2018; 126(1): 23-6.
17. 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.
18. Razi F, Rahnamaye Farzami M, Ebrahimi SA, Nahid M, Gholi Bigdeli M, Sheidaei A, et al. Comparative analytical performance of various HbA1c assays in Iran. Arch Iran Med 2016; 19(6): 414-9.

DOI: *10.48305/jims.v40.i673.0368*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 673, 1st Week, August 2022**

Received: 08.03.2022 Accepted: 02.05.2022 Published: 29.07.2022

The accuracy of Glycosylated Hemoglobin a Index Measurement in Medical Laboratories in Isfahan City

Parisa Khodabandeh-Shahraki[1], Mojtaba Akbari[2], Aliye Tabatabaee[3], Siana Mobasherizadeh[4], Mansour Siavash[5]

Original Article

Abstract

Background: Today, Glycosylated hemoglobin A (HbA1c) is used as a diagnostic criterion for diabetes and long-term monitoring of plasma glucose level. Therefore, it is essential that HbA1c be measured accurately. The aim of this study was to investigate the common HbA1c index measurement methods in laboratories in Isfahan and compare the accuracy of their results with the reference method.

Methods: In this cross-sectional study, three blood sample of a volunteer had been sent to 37 laboratories. Among them, two laboratories measured this parameter by HPLC method and were considered as a reference. For each laboratory, the coefficient of variation (CV) was calculated. One-way ANOVA and Bonferroni post hoc test were used to compare the results of different methods of measuring HbA1c with the reference method.

Findings: Comparison of the laboratories results with the reference method showed that 60% of the laboratories reported the percent of HbA1c index beyond the permitted range with an unfavorable report. The mean and standard deviation and CV index range were 2.8 and 4.4, (from 0.65 to 25.18%), respectively. Comparison of the different methods results with the reference method showed that capillary electrophoresis and immunoturbidometry and enzymatics had good accuracy. The highest accuracy was related to capillary electrophoresis. The methods with the lowest measurement accuracy were nephelometry and column chromatography, respectively.

Conclusion: Despite the standardization of methods for measuring HbA1c, it was noted that different results of the same blood sample was reported. In addition to the High Performance Liquid Chromatography method, the capillary electrophoresis seems to provide a more acceptable result than other methods.

Keywords: Diabetes; Glycosylated hemoglobin; Measurement; Data accuracy

Citation: 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.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(672): 368-74.

1- Immunology MSC, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Isfahan, Iran
2- Epidemiology PhD, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Isfahan, Iran
3- Biochemistry MSC, Isfahan, Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Isfahan, Iran
4- Microbiology PhD, Department of Microbiology, Nosocomial Infection Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Endocrinology Professor, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mansour Siavash, Endocrinology Professor, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Isfahan, Iran; Email: siavash@med.mui.ac.ir