

HbA_{1c} Ölçümünde Bir İmmünotürbidimetrik ve HPLC Yöntemin Karşılaştırılması

Comparison of a Immunoturbidimetric and HPLC Methods in HbA_{1c} Determination

Yasemin Üstündağ*

Kaçan Huysal**

Gülsevil Tarakçı*

*Şevket Yılmaz Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Bursa

**Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Bursa

ÖZET

Amaç: HbA_{1c} ölçümü Diabetes Mellitus (DM) hastalarında retrospektif glisemik kontrolün değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Günümüzde, HbA_{1c} ölçen 30'dan fazla çeşit yöntem bulunmakta ve bu yöntemler ölçtükleri bileşik ve etkilenim açısından farklılık göstermektedirler. Bu çalışmanın amacı otoanalizörde kullanılan türbidimetrik immüno-inhibisyon yöntem performansını yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemini referans olarak karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Kontrol kanları ile gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirlik çalışıldı. 144 ardışık hastanın örnekleri alınarak HbA_{1c} düzeyi her iki sistemle (çift-kör, paralel şekilde) ölçüldü. Her iki yöntemle elde edilen veriler farklı istatistiksel teknikler kullanılarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Kontrol materyallerinin gün içi ve günler arası CV'leri immüno-turbidimetrik yönteminde % 5.1 ve % 8.2 HbA_{1c} değerleri için <%3 bulundu. HPLC yönteminde ise % 5.1 ve % 10.5 değerleri için <% 2 olarak bulundu. HbA_{1c} düzeyleri % 5.1-% 17.5 aralıkta olan taze tam kan örnekleri ile yapılan yöntem karşılaştırmada; regresyon denklemi, Dimension %HbA_{1c} = 0.974xHPLC %HbA_{1c} -0.442 ve korelasyon katsayısı r=0.987, p<0.001 olarak saptandı. HPLC (%8.9±2.8) ve türbidimetrik immüno-inhibisyon (%8.2±2.8) yöntemleriyle ölçülen hasta örnekleri %HbA_{1c} düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulundu (p<0.01).

Sonuç: İmmunoturbidimetrik yöntem HPLC sistemi ile karşılaştırılabilir ve benzer performans göstermektedir. Bununla birlikte HbA_{1c} düzeylerindeki ufak değişikliklerin klinik takip ve tedavideki önemi nedeni ile hastaya sonuç vermede tek bir metoda bağlı kalınmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Glikozillenmiş hemoglobin, turbidimetri, HPLC

ABSTRACT

Objective: Measurement of HbA_{1c} is widely used in patients with diabetes mellitus as a monitor of retrospective glycemik control. Currently, more than 30 different methods are commercially available to measure HbA_{1c} and these methods vary in the fraction of Hb measured and the interferants. The aim of this study was to study the performance of immunoturbidimetric method against the high performance liquid chromatography (HPLC) method as the reference.

Materials and Methods: Control sera were used to define within-day and between-day precision. Samples from 144 subjects were collected and HbA_{1c} levels were determined (double-blind, parallel manner) using both systems.

Results: Intra- and the inter-assay C Vs (coefficient of variation) of assay systems were < 3% with the immunoturbidimetric method (HbA1c values 5.1% and 8.2%) and and < 2% with the HPLC method (HbA1c values 5.1% and 10.5%) , respectively. There was significant difference between HbA1c results measured with HPLC (8.9%±2.8) and turbidimetric immuno-inhibition (8.2%±2.8) methods (p<0.01). Accuracy was evaluated in the selected fresh sera with HbA1c levels between 5.1-17.5 %. Correlation coefficient was r=0.987 and the regression equation was (Dimension HbA1c (%) = 0.974xHPLC (%) -0.442) acceptable.

Conclusion: Although the results of immunoturbidimetric assay system is comparable to HPLC system; depending on the importance of small changes in HbA1c levels in therapy one method should be chosen for monitoring diabetic patients.

Key Words: Glycated hemoglobins, HbA1c, turbidimetry, HPLC

GİRİŞ

Normal y etişkin hemoglobini, %97 hemoglobin A (yani HbA₀), ~ %2.5 HbA₂ ve ~%0.5 HbF'den oluşur. Hemoglobin diğer birçok protein gibi enzimatik olmayan glikasyona uğrar (1). Glukoz kalıntısı ilave edilmiş hemoglobini tanımlamak üzere glikozile hemoglobin (GHb) veya HbA_{1c} terimleri kullanılır. National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) HbA_{1c} değerinin, insan tam kanındaki total hemoglobinin yüzdesi olarak bildirilmesini önermektedir (1, 11).

Diabette mikrovasküler komplikasyonların gelişme riskinin tahmininde HbA_{1c} ölçümünün yararının gösterilmesi, birçok ulusal sağlık kuruluşunun glisemik kontrolün en iyi takibinin HbA_{1c} ile yapılabileceğini ilan etmeleri ile sonuçlanmıştır (2,3). Bu ise, laboratuvarların HbA_{1c} ölçüm yükünü arttırmış ve HbA_{1c} ölçümü rutin biyokimyasal analizler dışında en çok istenen laboratuvar testi haline gelmiştir (2). Günümüzde laboratuvarlarda HbA_{1c} tayininde glikozile hemoglobin ile non glikozile hemoglobin arasındaki yük farkına dayalı olanlar ("katyon değişim kromatografisi, elektroforez ve izoelektrik fokuslama), yapısal farka dayalı olanlar; (boronat affinite kromatografisi ve "immuno-assay"ler) ya da kimyasal farka dayalı olanlar (elektrosprey kütle spektrometrisi) dahil olmak üzere 30'dan fazla ölçüm yöntemi kullanılmaktadır (4-11).

HbA_{1c} heterojen bir moleküldür ve HbA_{1c} ölçüm metodları genel olarak analitik açıdan zor testlerdir: zaman alıcıdır, teknik ola-

rak uygulamaları zorludur. Farklı ölçüm metodları glikozillenmiş hemoglobinin farklı fraksiyonlarını farklı yollarla ölçtüğünden; kullanılan metoda bağlı olarak farklı yöntemler farklı HbA_{1c} değerleri ile sonuçlanmaktadır (12-15). HbA_{1c} ölçüm metodlarının uluslararası düzeyde standardizasyon çalışmaları halen devam etmektedir (16).

Bu çalışmada laboratuvarımızda rutin olarak HbA_{1c} ölçümünde kullanılan HPLC yöntemi ile otoanalizörde kullanılan immüno turbidimetrik yöntemleri karşılaştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Tüm HbA_{1c} ölçümleri hastanemiz merkez laboratuvarında Adams HA-8160 (Arkray KDK, Shiga, Japan) HPLC cihazında, ve Dimension RXL analizöründe Dade HbA1c reaktifleri kullanılarak; (Siemens Medical Solutions USA, Malvern, PA, USA) çalışıldı.

HbA_{1c} yöntemleri

Adams HA-8160

Adams HA-8160 (Arkray KDK, Shiga, Japan) otomatik HbA1c analizörü ters-faz katyon değişim kromatografisi yöntemine dayanan HPLC cihazıdır (17). Çalışma sırasında raklara koyulan EDTA'lı tam kan tüplerinin kapakları cihaz tarafından otomatik olarak delinerek içinden aspire edilen 4µl otomatik olarak hemolize edilir. Hemolize olan tam kan kolona transfer olur, burada HPLC tarafından değişik fraksiyonlara ayrılır. Elde edilen her fraksiyon çift dalga boylu kolorimetre ile 415 ve 500 nm'de fotometrik olarak okunur.

Sonuçlar %HbA_{1c}, % HbA1 and % HbF olarak değişik hemoglobin fraksiyonlarının pik alanlarından hesaplanır ve total hemoglobinin yüzdesi olarak bildirilir.

Çalışmaya başlamadan önce %0.0, %5.5 ve %11.1 içeren HbA_{1c} (C: 71179, Arkray KDK, Shiga, Japonya) kalibratörleri kullanılarak cihaz kalibre edildi.

Dimension RXL immunoassay

Dimension RXL otoanalizöründe % HbA_{1c} ölçümü turbidimetrik immüno-inhibisyon yöntemine, total hemoglobin ölçümü ise alkalın hematin reaksiyonuna dayanan HbA_{1c} (Siemens Healthcare Diagnostics LTD, Newark, DE, USA) kiti kullanılarak ölçüm yapılmaktadır. Analizörde düşük ozmotik basınca maruz bırakılarak parçalanmış eritrositlerden açığa çıkan total Hb 405 ve 700 nm de kolorimetrik olarak ölçülür. Aynı anda ikinci küvette anti HbA_{1c} antikorları ile -Hb'nin N-terminali çözünür bir antijen-antikor kompleksi oluşturmak üzere bağlanır. Sentetik çoklu HbA_{1c} epitoplari içeren polihapten reaktifleri bu küvete eklenir. Polihapten serbest anti HbA_{1c} antikorları ile bağlanarak çözünmeyen antijen-antikor kompleksleri oluşturur. Reaksiyon hızı turbidimetrik olarak 340 ve 700 nm de ölçülür. Test sonucu daha sonra Hb A_{1c}/Hb oranından hesaplanır. Örnek analiz zamanı 3 dakikadır (18).

Çalışmamızın birinci aşamasında analitik performans karakteristikleri yönünden incelemede kontrol materyalinde hedeften sapma ve tekrarlanabilirlik çalışmaları yapıldı. Gün içi kesinlik çalışmaları için düşük ve yüksek HbA_{1c} içeren tam kan örneklerini aynı gün içinde 20 kez çalıştık. Günler arası kesinlik çalışmaları her bir cihazda kendi kontrol materyalleri kullanılarak ve her bir örnek yirmişer kez çalışılarak değerlendirildi (Streck's HbA_{1c}-Cellular®, Omaha, USA) (düşük kontrol hedef değer 5.4 ölçüm aralığı % 4.4-6.4; yüksek kontrol hedef değer 10.8 ölçüm aralığı % 8.8-12.8); (Dade® Diabetes Control, CA, USA) (düşük kontrol mean 5.3 ölçüm

aralığı %4.2-6.4; yüksek kontrol hedef değer 9.3 ölçüm aralığı %7.4-11.2). İç kalite kontrol çalışmalarının yapıldığı gün; Riças (Randox Laboratories Ltd UK) (cycle 5, sample 9) dış kalite kontrol çalışması da yapıldı

Geri kazanım çalışması için orta (%7) ve yüksek (%14) değerlerde % HbA_{1c} içeren iki hastanın EDTA'lı tam kanı yüksek değerli hastanın kanı 1:10 ve 2:10 oranında olacak şekilde ilave edildi. Daha sonra bu numuneler beşer kez çalışılarak ortalama değerleri alındı. % Geri kazanım= (Geri elde edilen konsantrasyon/Eklenen konsantrasyon) x 100 formülü kullanılarak hesaplandı.

Doğrusallık çalışmasında diyabetik bir hastanın tam kanı (HbA_{1c} %15.4, Hct %41, HbF 0) ve kan grubu 0 negatif olan sağlıklı bir hastanın (HbA_{1c} %4.8, Hct %37, HbF 0.2) tam kanı kullanıldı. Üst ve alt limitler tam kan numunelerinin değerleri olarak kabul edilerek hasta kanları farklı oranlarda karıştırılarak (HbA_{1c} %4.8, %7.4, %10.1, %12.8, %15.4) ikişer kez çalışıldı. Ölçülen HbA_{1c} değerleri beklenen HbA_{1c} değeri ile karşılaştırılarak determinasyon katsayısı bulundu.

İkinci aşamada ise yöntem karşılaştırma çalışması yapıldı. Bu amaçla hastanemiz biyokimya laboratuvarına HbA_{1c} ölçümü için başvuran toplam 144 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma için bu hastalardan hiç birinin kaydı alınmadı, ek örnek istenmedi ve hasta ile görüşülmedi. İnterferans kaynağı olabilecek hemoliz, sarılık, lipemi görülen örnekler çalışmaya alınmadı. Hastaların venöz kan örnekleri 12 saatlik açlığı takiben potasium EDTA'lı tüplere (Insepack Sekisui Chemical Co., Ltd, Osaka Japonya) alındı. HbA_{1c} düzeyi hiç bekletilmeden her iki sistemle (çift-kör, paralel şekilde) ölçüldü. Karşılaştırma çalışmasında hasta örneklerinin HbA_{1c} konsantrasyonları dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Sonuçlar SPSS 10.0 paket programına kaydedildi. İstatistiksel değerlerdirme için aritmetik ortalama (AO), standard sapma (SD),

Tablo 1. Karşılaştırma çalışmasında kullanılan örneklerin HbA_{1c} konsantrasyon dağılımı.

HbA _{1c} (%)	4-6	6-6.5	6.5-8	8-10	10-12	>12
Hasta sayısı	22	22	26	35	23	16

yüzde varyasyon katsayısı (%CV) hesaplandı. Yöntemlerin korelasyonu Pearson korelasyon analizi ile saptandı. Hastaların sonuçları, regresyon analizi yapılarak regresyon eğrisi, eşitliği ($y=a+bx$) hesaplandı. HPLC değerlerinin ortalaması, bağımsız değişken olarak verildi. Dimension cihazı ile alınan sonuçlar bağımlı değişken olarak alındı.

BULGULAR

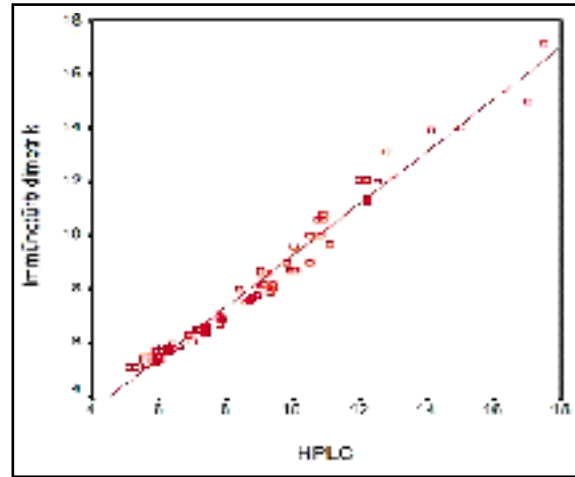
HbA_{1c}'nin HPLC ile ölçümünde gün içi CV değeri %5.1 hedef değeri için %2, %10.5 hedef değeri için %1.7 olarak bulundu (Tablo 2). İmmünoturbidimetrik yönteminin gün içi CV değeri ise %5.1 hedef değeri için %1.8 ve %8.2 için %2.8 olarak bulundu (Tablo 2).

Riças (Randox Laboratories Ltd UK) (cycle 5, sample 9) dış kalite kontrol çalışmasında 16 laboruvardan elde edilen Siemens/Dade Dimension HbA_{1c} değer ortalaması %5.7±0.23, bizim HbA_{1c} bulgumuz ise %5.9 olarak kabul edilebilir sınırlar içinde rapor edildi. Yöntemlerin doğrusallık çalışmasında determinasyon katsayısı HPLC ve immünoturbidimetrik yöntem için sırası ile (R²) 0.997 ve 0.996 olarak bulundu. Geri kazanım çalış-

masında bulunan değerler %100 civarında toplanmıştı (Tablo 3).

Yöntem karşılaştırması çalışmasına alınan olgu sayısı ise toplam 144 olup; iki yöntem arasındaki korelasyon ($r=0.987$, $p<0.001$) ve regresyon denklemi (Dimension HbA_{1c} (%) = $0.974 \times \text{HPLC} (%) - 0.442$) olarak bulundu (Şekil 1).

Çalışmaya alınan vakaların HPLC sonuçlarına göre HbA_{1c} (%) dağılımı 5.10 ile 17.5 aralığında, mean değeri 8.9, standard deviasyonu 2.8 bulundu. Dimension cihazında HbA_{1c} (%) dağılımı 5.10 ile 17.1 aralığında, mean değeri 8.2, standard deviasyonu 2.8 bulundu, ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.01$).



Şekil 1. İmmünoturbidimetrik ve HPLC yöntemlerinin regresyon analizi grafiği.

Tablo 2. HbA_{1c} için tekrarlanabilirlik sonuçları (n=20).

Kontrol	Ortalama % Hb1c		Gün içi tekrarlanabilirlik % CV		Günler arası tekrarlanabilirlik % CV	
	Adams	Dimension RXL	Adams	Dimension RXL	Adams	Dimension RXL
C1	5.1	5.1	2.0	1.8	4.3	4.8
C2	10.5	8.2	1.7	2.8	4.1	4.0

Tablo 3. İmmünoturbidimetrik yöntemin HbA_{1c} için % geri kazanım sonuçları.

Örnek Konsantrasyonu	Eklenecek Konsantrasyon (C spike)	Okunan Toplam Konsantrasyon	Geri Elde Konsantrasyonu (Cölç-Cbazal)	Geri Kazanım
% 7.0	%1.4	%8.3	%1.3	%92.8
	%2.8	%10.1	%3.1	%110.7

TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü erişkinlerde yılda 3-4 kez, American Diabetes Association (ADA) stabil glisemik kontrolü olanlarda yılda en az 2, tedavisi değişen ya da glisemi hedefi sağlanamayanlarda yılda 4 kez HbA_{1c} düzeyinin ölçülmesini önermektedir (19). HbA_{1c} değerinin diyabetin uzun dönem takibinde kullanılıyor olması HbA_{1c} ölçüm metodunun yeterli tanılabilirliğe ve doğruluğa sahip olmasını gerektirmektedir (20).

HbA_{1c}'nin birey içi CV değeri çok düşük olduğundan; HbA_{1c} ölçüm değerlerinin kabul edilebilir olması için ADA tüm laboratuvarların NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Programme) tarafından sertifikalandırılmış, çalışma içi CV değeri <%5 (ideal olarak <%3) olan kitlerle çalışmasını önermiştir (21).

HbA_{1c} standardizasyonu için IFCC çalışma grubu ise (International Federation of Clinical Chemistry) referans laboratuvarları için kriter olarak CV < %2.5 hedef değerini koymuştur (22).

Bu çalışmada gün içi tekrarlanabilirlik sonuçları her iki cihazda da <%3'ün altında bulundu; ancak günler arası tekrarlanabilirlik değeri >%4 olarak tespit edildi. Literatürde ise tüm HPLC cihazları ile HbA_{1c} ölçümlerinde CV değerleri %3.5'un altında ve immuno-kimyasal yöntemler de ise %4-6 aralığında bulunmuştur (23, 24).

Çalışmamızda, HbA_{1c}'nin immuniturbidimetrik yöntem ile ölçülmesinde elde edilen sonuçlar ile HPLC yöntemiyle elde edilen sonuçlar arasında regresyon eşitliği ($y=0.974xHPLC$ (%)) -0.442) ve korelasyon değeri $r=0.987$ olarak kabul edilebilir bulundu. Bu bulgu iki cihaz HbA_{1c} bulguları arasında kabul edilebilir bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak tıbbi gereksinimin laboratuvarlarca karşılanmasında, çalışılan testin biyolojik varyasyonunun temel alınması da önemlidir. Klinik laboratuvarların performansının hasta tanı ve tedavinin izlenmesi gibi medikal

gereksinimlere karşılık ve rmesi gerektiği de açıktır (25). HbA_{1c}'nin birey içi biyolojik varyasyonu oldukça düşüktür <%2.0 (26). Buna göre iki farklı yöntemle çalışılan HbA_{1c} değerleri arasındaki sapmanın %7 HbA_{1c} düzeyi için %0.3'den daha düşük olması gerektiği bildirilmiştir (27). Çalışmamızda ise hastalardan alınan örneklerden ölçülen % HbA_{1c} düzeylerinin her iki cihazdaki sapma değeri (-0.7 %HbA_{1c}) bu kabul edilebilir değerden oldukça yüksektir.

Holmes ve ark. Dade Behring Dimension (Dade Behring, Deerfield, IL) HbA_{1c} ölçüm metodu da dahil olmak üzere ABD'de en çok kullanılan ve NGSP tarafından sertifikalandırılmış 8 yöntemin uzun dönem metodları arası medyan bias değerini incelemişlerdir ve metodlar arasında sistematik biaslara rastlamışlardır (28). HbA_{1c} sonuçları klinisyenler tarafından evrensel, sabit, değer eşiklerine dayanarak yorumlandığı için metodlar arası bias hasta tanı ve izleminde potansiyel hata kaynağıdır (28). Bizim de bu çalışmadaki bulgumuz sistematik bias yüksekliği ile uyumludur (28).

Sonuç olarak; 2 farklı yöntemle (HPLC ve immuniturbidimetrik) yapılan HbA_{1c} analiziyle, ölçülen % HbA_{1c} ölçümlerinin doğru, kesin ve güvenilir sonuç verdiğini belirledik. Ancak iki metod sonuçları arasındaki fark kabul edilebilir değerden yüksektir. Literatürde kişinin % HbA_{1c} değerindeki +/- %0.5'lik bir farkın ölçüm farklılıkları olarak değerlendirilmesini ve tedavi değişikliğine gerek olmadığını bildirmekle beraber hastanın %HbA_{1c} değerindeki +/- %0.5-1 değişim aralığı hastanın tedavisinin için iki yöntemin de (HPLC ve immuniturbidimetre) aynı hastada sonuç vermede kullanılması tedavide klinisyenin hasta takibi açısından problem yaratabilir (29). Bu sorun HbA_{1c} ölçümünde sürekli ve düzenli olarak tek bir analitik sistemin kullanılması ile çözümlenebilir.

Bununla birlikte kullanıcının hızlı sonuç elde etme, maliyet ve kendi laboratuvar şartları gibi faktörleri de göz önünde bulundurarak

yöntem seçimi yapmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Weykamp C, John WG, Mosca A. A review of the challenge in measuring hemoglobin A1c. *J Diabetes Sci Technol* 2009; 1: (3): 439-45.
2. American Diabetes Association: Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: (Supp 1) 106-8.
3. Marshall SM, Barth JH. Standardization of HbA1c measurements: a consensus statement. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 45-6.
4. Cohen MP, Witt J, Wu VY. Purified haemoglobin preparations in the evaluation of HbA1c determination by ion-exchange chromatography. *Ann Clin Biochem* 1993; 30: 265-71.
5. Papadea C, Cate JC. Identification and quantification of hemoglobins A, F, S, and C by automated chromatography. *Clin Chem* 1996; 42: 57-63.
6. Hall PM, Cook JGH, Gould BJ. An inexpensive, rapid and precise affinity chromatography method for the measurement of glycosylated haemoglobins. *Ann Clin Biochem* 1983; 20: 129-35.
7. Keating J, Pattison A, Sherwood RA. Evaluation of the Helena REP automated electrophoresis instrument for the measurement of glycated haemoglobin. *Ann Clin Biochem* 1991; 28: 185-6.
8. John WG, Gray MR, Bates DL, Beacham J. Enzyme immunoassay—a new method for estimating hemoglobin A1c. *Clin Chem* 1993; 39: 663-6.
9. Newman DJ, Henneberry H, Price CP. Particle enhanced light scattering immunoassay. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 22-42.
10. Palfrey S, Labib M. A rapid automated method for measuring glycated haemoglobin on the Beckman CX7 analyzer. *Ann Clin Biochem* 1994; 31: 293-5.
11. Kurt İ. Glikolize Hemoglobin (HbA1c) ölçümü ve diabetes mellitusun uzun dönem glisemik kontrolünde kullanılması. *Gülhane Tıp Dergisi* 2003; 45 (4): 387-95.
12. Bodor GS, Little RR, Garrett N, Brown W, Goldstein DE, Nahm MH. Standardization of glycohemoglobin determinations in the clinical laboratory: three years of experience. *Clin Chem* 1992; 38: 2414-8.
13. Wettre S, Von Schenck H. Batch to batch imprecision in the affinity chromatography assay of glycated hemoglobin. *Clin Biochem* 1986; 19: 364-6.
14. Bruns DE. Standardization, calibration, and the care of diabetic patients (Editorial). *Clin Chem* 1992; 38: 2363-4.
15. Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, Wilke AL, Rohlfing CL, Wians FH, et al. Interlaboratory standardization of measurements of glycohemoglobins. *Clin Chem* 1992; 38: 2472-8.
16. Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Slik W. Effect of calibration on dispersion of glycohemoglobin values determined by 111 laboratories using 21 methods. *Clin Chem* 1994; 40: 138-44.
17. Thevarajah T, Malathi MBBS, Nani Nordin, Chew YY. Performance evaluation of the Arkray Adams HA-8160 HbA1c Analyser. *Malaysian J Pathol* 2008; 30(2): 81-6.
18. Garcia-Alcala H, Ruiz-Argüelles A, Cedillo-Carvolla B. Effect of the Method to Measure Levels of Glycated Hemoglobin on Individual Clinical Decisions. Comparison of an Immunoassay With High-Performance Liquid Chromatography. *Am J Clin Path* 2009; 132 332-5.
19. American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2000; 23(Suppl 1): 32-2.
20. Goodall I. HbA1c Standardisation Destination—Global IFCC Standardisation How, Why, Where and When A Tortuous Pathway From Kit Manufacturers, via Interlaboratory Lyophilized and Whole Blood Comparisons to Designated National Comparison Schemes. *Clin Biochem Rev* 2005; 26(1): 5-19.
21. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Myers GL, Sacks DB, Goldstein DE. NGSP Steering Committee. The national glycohemoglobin standardization program: a five-year progress report. *Clin Chem* 2001; 47(11): 1985-92.
22. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010. *Diabetes Care* 2010; 33: 11-61.
23. Sacks DB, Path FRC. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Missouri: Elsevier Saunders Inc. 837-901, 2006.
24. Friedecky B, Kratochvila J, Budina M, Sperlingova I. The results of HbA1c measurement and its comparison with reference method values in an EQA programme. *Accreditation and Quality Assurance: Journal for Quality, Comparability and Reliability in Chemical Measurement* 2010; 15 (4): 239-43.
25. Kenny D, Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Kallner A. Introduction: strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine. *Consensus agreement*. *Scan J Clin Lab Invest* 1999; 59(7): 477-8.
26. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002; 48: 436-72.
27. Jorgensen LG, Braunslund I, Stahl M, Stahl M, Hyltoft Petersen P, Iversen S, Klitgaard N, de Fine Olivarius N. Upper reference limit, analytical quality specifications and clinical use of haemoglobin A1c. *Scand J Clin Lab Invest* 2002; 62: 609-22.
28. Holmes EW, Ersin C, Augustine GJ, Charnogursky GA, Grybac M, Murrell JV, McKenna KM, Nabhan F, Kahn SE. Analytic bias among certified methods for the

measurement of hemoglobin A1c: a cause for concern? Am J Clin Path 2008; 129 (4): 540-7.

29. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott, M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2002; 48: 436-72.

Yazışma adresi:

Dr. Yasemin Üstündağ
Şevket Yılmaz Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Biyokimya, Bursa
Tel : 0 224 295 50 00
E-posta: yaseminbudak2000@yahoo.com
