

HbA2 ölçümü için BioRad D-10TM ve Tosoh HLC 723 G8 HPLC sistemlerinin karşılaştırılması

Comparison of the BioRad D-10TM and Tosoh HLC 723 G8 HPLC instruments for the detection of HbA2

Güzin AYKAL¹, Fazıla ATAKAN-ERKAL², Ayşenur YEĞİN¹, Esin EREN¹, Necat YILMAZ¹

ÖZET

Amaç: Özellikle Akdeniz bölgesinde önemli bir halk sağlığı sorunu olan hemoglobin bozuklukları taramasında hemoglobin sub tiplerini ayırt etmek amacıyla en yaygın kullanılan yöntem HPLC (High Performance Liquid Chromatography)'dir. Pek çok marka ve model HPLC sistemleri ile hemoglobinopati taraması yapılmakta ancak sistemlerin birbirleri ile uyumu bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı; D-10TM Hemoglobin testingsystem (BioRad,Hercules,USA) marka HPLC cihazı ile Tosoh HLC 723 G8 (TosohBioscience, Japan) HPLC cihazını hemoglobinopati tanı ve taraması açısından önemli olan HbA2 parametresi ölçümü bakımından karşılaştırılmasıdır.

Yöntemler: Çalışmaya Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı Biyokimya Bölümüne 1-31 Ocak 2016 tarihleri arasında talasemi taraması için başvuran 12'si erkek, 18'i kadın toplam 30 kişi alındı. Her iki cihazda tek seferde çalışılan hemoglobin A2 (HbA2) değerlerinin farkları için bağımlı iki grup ve iki ölçüm fark testleri, istatistiksel uyum ve ilişki analizi için iki-yönlü rastgele sınıf içi korelasyon katsayısı (SKK), Cohen's kappa katsayısı, korelasyon katsayısı (r) ve Bland Altman Analizi yapıldı. Sonuçlar uygun grafiklerle sunuldu.

Bulgular: Analizler sonucunda Tosoh HLC 723 G8 cihazında örneklerin 14'ü (%46.66) ve BioRad D-10TM cihazında örneklerin dokuz'u (%30) B -talasemi taşıyıcısı olarak saptandı. Her iki cihazda

ABSTRACT

Objective: HPLC (High Performance Liquid Chromatography) is the most commonly used method to differentiate the subtypes of hemoglobin in screening for hemoglobinopathy which is a major public health care problem especially in Mediterranean region. Today, different models and trademarks of HPLC equipment have been used in screening for hemoglobinopathy. However, the agreement of the results of the analyses performed by these types of equipment are unknown. In this study, the aim was to investigate the agreement between the results of the analyses of HbA2 values with D-10TM Hemoglobin testing system (BioRad,Hercules,USA) and Tosoh HLC 723 G8 (TosohBioscience, Japan) trademark.

Methods: A total of 30 individuals, 12 males and 18 females, applied to the Antalya Training and Research Hospital laboratory between January 1 and January 31, 2016 for thalassemia screening were included to this study. Statistical correlations of hemoglobin A2 (HbA2) values, analyzed in each analyzer as a single analysis from each sample, were evaluated using two-way random intraclass correlation coefficient (ICC), Cohen's kappa coefficient, correlation coefficient (r) and Bland Altman analysis. Results are presented with graphics.

Results: As a result of the analysis, 14 of the samples (46.66%) were detected as - thalassemia carrier with Tosoh HLC 723 G8 system and nine of the samples (30%) were detected as - thalassemia carrier with BioRad D-10TM system. There was significant difference in HbA2 values measured with both systems ($z = -4.487$;

¹ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Lab, Antalya

² Antalya Halk Sağlığı Laboratuvarı, Biyokimya Lab, Antalya



İletişim / Corresponding Author : Güzin AYKAL

Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı 07100 Antalya - Türkiye

Tel : +90 505 474 66 96

E-posta / E-mail : guzinaykal@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 19.03.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 26.03.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.46762

Aykal G, Atakan-Erkak F, YeğİN A, Eren E, Yılmaz N. HbA2 ölçümü için BioRad D-10TM ve Tosoh HLC 723 G8 HPLC sistemlerinin karşılaştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(3): 245-252

ölçülen HbA2 değerleri arasında anlamlı fark saptandı ($z = -4.487$; $p < 0.001$). HbA2 değerleri için sınıf içi korelasyon katsayısı 0.898, uyum katsayısı 0.783, Spearman korelasyon katsayısı 0.944, Cohen's Kappa değeri 0.658 ve Bland Altman Analizi sonucu yanlılık değeri 0.75 (Alt Limit: -0.49; Üst Limit: 1.99) olarak bulundu.

Sonuç: Korelasyon, regresyon ve diğer istatistiksel analizlere göre her iki cihaz arasındaki uyum yetersiz olarak bulundu.

Anahtar Kelimeler: hemoglobinopati, HPLC, HbA2.

$p < 0.001$). For HbA2 values; intraclass correlation coefficient was 0.898, coefficient of concordance was 0.783, Spearman correlation coefficient was 0.944, Cohen's Kappa value 0.658 and Bland Altman analysis bias value was 0.75 (Lower Limit: -0.49; Upper Limit: 1.99).

Conclusion: According to the regression, correlation and other statistical analyses, agreement between the results of HbA2 values measured by the two analyzers were found to be insufficient.

Key Words: hemoglobinopathy, HPLC, HbA2.

GİRİŞ

Hemoglobinopati, hemoglobin molekülünün polipeptid zincirindeki yapısal değişiklikler veya sentez bozukluklarından kaynaklanan bir kan hastalığıdır. Hemoglobin varyantları, genetik değişikliklerin sonucu olarak talasemilerde olduğu gibi hemoglobin zincirinde sentez azlığı veya yokluğu şeklinde ya da hemoglobin S (HGS) gibi anormal hemoglobin türleri olarak izlenir. Günümüzde 700'den fazla varyant bilinmektedir (1,2). β -talasemi ya da diğer adıyla Akdeniz anemisi, dünyada ve ülkemizde en sık görülen kalıtsal kan hastalığı olup, dünya nüfusunun yaklaşık %1.5 kadarı β -talasemi taşıyıcısıdır (3,4).

Otozomal resesif geçişli olan β - talasemi, globin zincirinin az üretilmesi ya da hiç yapılmaması sonucu ortaya çıkan ve klinik tablosu oldukça değişken olan bir hastalıktır. Talasemi majör, talasemi intermedia ve talasemi taşıyıcılığı olmak üzere üç klinik formda seyreden β -talaseminin ilk iki formu tıbbi takip ve tedavi gerektirirken, talasemi taşıyıcılığında klinik ve fenotipik özellikler normal olup, ancak özel testlerle ortaya çıkartılabilmektedir (5-7). Talasemi bozukluklarının önlenmesi amacıyla genetik danışmanlık verilebilmesi için β -talasemi taşıyıcılığının doğru tanısı şarttır. Hemoglobin (HbA2)

fraksiyonundaki artışın belirlenmesi en tipik tanısal belirteç olduğundan hastalığın tanısında anahtar rol oynamaktadır (8).

Gerek talasemi gerekse diğer hemoglobinopatilerin tanısı ve taramasında hemoglobin alt tiplerinin ayrıştırılması ve değerlendirilmesi temel esastır (4). Hemoglobin anormalliklerinin laboratuvar tanısı, HbS gibi yapısal varyantları veya HbA2 gibi normal hemoglobinlerdeki anormal yükselmeleri tanımlamaya dayanmaktadır (9). Günümüzde hemoglobin alt tiplerinin ayrımı için selüloz asetat elektroforezi, kromatografik mikrokolonlar, kapiller elektroforez ve katyon değiştirici yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılan metotlar arasındadır (4). HbA2 birçok laboratuvar yöntemi ile ölçülebilmektedir ve esas olarak bu hemoglobin fraksiyonunun diğerlerinden ayrılması elektrik yüklerine göre yapılmaktadır (10). Son yirmi yıl içinde, HPLC HbA2 ölçümü için tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir (4,8).

Katyon-değiştirici, HPLC sistemi, hemoglobin türlerinin oldukça hızlı ve doğru tanımlanması için otomatize edilmiştir (9). Bu yöntemde, numuneler tampon ve tuzla karıştırılmakta ve bir iyon değiştirme

kolonu üzerine enjekte edilmekte, hemoglobinler geçiş işlemi sırasında fiziksel özelliklerine (örneğin yüzey yükü, hidrofilik gruplar vb) göre ayrılmaktadırlar (2). HPLC, HbA2, hemoglobin F (HbF), hemoglobin A0 (HbA0) ve bunun yanında HbS, hemoglobin C (HbC), ve benzeri patolojik hemoglobin varyantlarını ayırmada güvenilir bir yöntemdir (4). İyi analitik performans, tam otomatize ve bu işe özel cihazların kullanım kolaylığı bu yöntemin avantajlarıdır (8). Hemoglobin alt tiplerinin ayırmak zahmetli ve zor bir süreç olduğundan hem HPLC hem de diğer metotlar eğitilmiş ve uzman personel gerektirmektedir (4).

Hemoglobinopati tarama ve tanısında genel olarak izlenen yol; hemoglobin, hematokrit ve diğer eritrosit endekslerinin tespiti, HbF ve HbA2 analizlerini de içeren hemoglobin alt tiplerinin ayrıştırılması ve sonunda kesin tanı için DNA analizini kapsamaktadır (4).

Son yıllarda tıp teknolojisi alanında yaşanan büyük gelişmeler tıp laboratuvarlarında oldukça fazla marka ve model cihazın kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Bu cihazların birbiri ile uyumunu araştırmak ise ilgili uzmanlar için bir sıkıntıdır. Bu nedenle bu çalışmada; D-10TM Hemoglobin Testing System (BioRad ,Hercules, USA) marka HPLC cihazı (Sistem 1) ile Tosoh HLC 723 G8 (Tosoh Bioscience, Japan) HPLC cihazının (Sistem 2) HbA2 parametresinin ölçümü bakımından karşılaştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı Biyokimya Bölümüne 1-31 Ocak 2016 tarihleri arasında talasemi taraması için başvuran 12'si erkek, 18'i kadın toplam 30 kişi alındı. Bu kişilerin antekübital venlerinden EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit)'li tüplere kan örnekleri alındı. Alınan bu örnekler her iki cihazda da tek seferde, eş zamanlı çalışıldı ve sonuçlar kaydedildi.

Sistem 1 ve Sistem 2'de cihazlara spesifik iyon değiştirici HPLC kolon ve tamponları kullanıldı. Bu cihazlar çalışılan numuneye önceden herhangi bir

işlem gerektirmeyen örnek dilüsyonunu ve hemolizini otomatik yapan HPLC sistemleridir (3,9).

Genel olarak HPLC sistemleri ile hemoglobinin alt tiplerinin ayrılması

Sistem 1 ve Sistem 2 HPLC cihazlarında hemoglobinler alt fraksiyonlarına iyon değişim HPLC yöntemi ile ayırmaktadırlar. Numuneler analiz için aspire edildikten sonra hemoliz edici solüsyon ile dilüe edilmektedir. Dilüe ve hemolize olmuş numune filtreden geçerek kolona enjekte edilmektedir. Sistem 2'de tuz konsantrasyonları ve pH'ı farklı üç solüsyon (eluent 1, 2, 3) kullanılarak hemoglobinler alt fraksiyonlarına ayrılırken bu amaçla Sistem 1'de iki solüsyon (eluent 1, 2) kullanılmaktadır. Hemoglobin fraksiyonunun enjeksiyon zamanından ayrılaştığı noktaya gelene kadar geçen alıkoyma süresi retansiyon zamanı olarak bilinmektedir. Hemoglobinopati programında HbF, A0, A2 ve diğer anormal hemoglobinleri tanımlamak için belirlenen retansiyon zamanları kullanılmaktadır. Kolondan çıkan elüatlardaki hemoglobin alt tiplerini dedektörler saptamakta ve buna bağlı olarak kromatogramlar otomatik olarak sistem tarafından çizilmektedir (3).

İstatistiksel Analiz

Tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleri ile sunuldu. Sayısal veriler için normal dağılım varsayımı Shapiro-Wilk testi ile yapıldı. Kadın ve erkeklerin eritrosit endeksleri ve cihaz ölçümleri normal dağılım varsayımı sağlandığı durumda İki Bağımsız Örneklem t Testi, sağlanmadığı durumda Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Taşıyıcı ve normal grupların HbA2 ölçümleri arasındaki farklarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. Cihazlardan elde edilen bulguların normal ve taşıyıcı olma durumları arasındaki fark için McNemar testi, bu iki sonuç arasındaki uyum Kappa testi ile incelendi. İki cihazdan elde edilen ölçüm değerleri arasındaki farkın analizinde normal dağılım varsayımı sağlanmadığı

için Wilcoxon Eş Testi, ölçümler arasındaki ilişkide Spearman Korelasyon Testi kullanıldı. Ölçümler arasındaki istatistiksel uyum için sınıf içi korelasyon katsayısı (SKK) (iki-yönlü rastgele) (10) ve uyum (concordance) korelasyon katsayısı (11,12) kullanıldı. Cihazların uyumu ve yanlışlık durumunun tespiti için Youden ve Bland Altman grafiği (13) oluşturuldu. Bland Altman grafiğinde x eksenini, gerçek değer en iyi tahmin edicisi olan aynı denek üzerinden iki metot ile elde edilen ölçümlerin ortalama değerleri oluşturmaktadır. Y eksenini ise, iki metot ile aynı denek üzerinden elde edilen ölçümler arasındaki fark değerleri oluşturmaktadır. Bland Altman grafiği, ortalamalar (gerçek değer) ve farklar (hata) arasındaki olası bir korelasyonun değerlendirilmesine de imkan vermektedir. Youden grafiği tanısal testin iki cihazdaki performansını karşılaştırmaktadır.

Analizler SPSS 15.0 ve MedCalc 11.0 paket programları ile yapıldı.

BULGULAR

Çalışmaya Sistem 1 ve Sistem 2’de her cihaz için de HbA2 kesi değeri %3.5 olarak alındı. Kadın ve erkeklerin eritrosit endeksleri ve cihazlara göre HbA2 değerleri arasındaki farklar Tablo 1’de verildi. Yapılan iki grup fark testlerine göre erkeklerin Hb, Htc ve OEH düzeyleri kadınlardan anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$). OEHB, Sistem 2 ve Sistem 1 HPLC cihazlarından ölçülen HbA2 ölçümlerinin cinsiyete göre fark yaratmadığı tespit edildi ($p>0.05$).

Her iki HPLC cihazında ölçülen HbA2 değerlerinin taşıyıcı ve normal gruplara göre ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 2’de verildi. %3.5 kesim noktasına göre taşıyıcı ve normal olarak belirlenen grupların ölçümleri arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p<0.001$).

Elde edilen numunelerin her iki cihazda da çalışması sonucunda Sistem 2 cihazında örneklerin 14 (%46.66)’ü ve Sistem 1 cihazında örneklerin dkozu (%30)’u B-talasemi taşıyıcısı olarak saptandı.

McNemar Testine göre iki cihazdan elde edilen talasemi taşıyıcılığını bulma oranları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.063$). Detaylı olarak incelenecek olursa, Sistem 2 cihazına göre taşıyıcı olarak bulunan 14 hastanın dokuzu Sistem 1 cihazına göre taşıyıcı olarak bulundu, Sistem 2 cihazına göre normal olan 16 hastanın tamamının Sistem 1’e göre de normal olduğu görüldü. Sistem 1’in taşıyıcı olarak gördüğü dokuz hastanın tamamını Sistem 2 de taşıyıcı olarak gördü, Sistem 1’in normal olarak gördüğü 21 kişinin 16’sını Sistem 2 normal kabul etti. Toplam uyum oranı %83.3 (25/30) olarak belirlendi. Yapılan Kappa uyum testine göre iki ölçüm cihazından elde edilen bulgular arasındaki uyum istatistiksel olarak anlamlı ve önemli düzeyde yüksek bulundu ($p<0.001$; $\kappa=0.658$) (14).

Sistem 1 ve Sistem 2 ile ölçülen HbA2 değerlerinin uyumu ile ilgili tüm sonuçlar Tablo 3’de sunuldu. Bland-Altman, Youden ve korelasyon grafikleri Şekil 1’de verildi. Sistem 2 cihazına göre ölçülen HbA2 değeri ortalaması 3.69 ± 1.55 (Medyan:3.1 min:1.1-maks:7.1), Sistem 1 cihazına göre ölçülen HbA2 değeri ortalaması 2.94 ± 1.25 (Medyan:2.6 min:1-maks:7.5)’di. Bu iki ölçüm arasındaki fark anlamlı bulunmuş olup Sistem 2’nin HbA2 değerini daha yüksek ölçtüğü görüldü ($p<0.001$). Spearman korelasyon testine göre ölçümler arasındaki korelasyon anlamlı bulundu ($r=0.944$; $p<0.001$).

İki cihazın uyumunu incelemek için yapılan sınıf içi korelasyon katsayısı (SKK) 0.898, uyum korelasyon katsayısı (UKK) ise 0.783 olarak belirlendi.

Bu sonuçlara benzer şekilde Bland-Altman grafiğinde iki cihaz ölçümlerinin ortalamaları arasında %0.75 fark olduğunu ve diğer farkların güven aralıklarında saçıldığı görüldü. Yine Bland-Altman ve Youden grafiklerine göre her iki cihaz sonuçlarının %1-3 aralıklarında uyumunun iyi olduğunu, bununla birlikte %3’den büyük değerlerde Sistem 2 cihazının Sistem 1 cihazına göre daha yüksek ölçüm yaptığını saptandı.

Tablo 1. Kadın ve erkeklerin eritrosit endeksleri ve HbA2 ölçümleri arasındaki farklar

	Kadın (n=19)					Erkek (n=11)					P
	Ort	SS	Med	Min	Max	Ort	SS	Med	Min	Max	
Hb^a											
Erkek:14-18 g/dl Kadın:12-16 g/dl	10,84	1,54	10,56	7,7	13,7	13,51	2,66	14,6	8,7	16,6	0,009 ^c
Htc^a											
Erkek:38-50 % Kadın:34-44 %	34,15	4,58	34,2	23,5	42,6	42,24	7,3	46,1	28,2	50,5	0,001 ^c
OEH^b											
78-93 um3	70,46	11,28	67,9	59	90,7	80,21	14	84,3	56,3	94,8	0,045 ^c
OEhb^b											
25-32 pg	22,27	4,26	20,2	18	29,9	25,67	5,34	27,4	17	31,2	0,093
A2(TOSOH)^b	3,73	1,57	3,1	1,5	6,3	3,64	1,57	3,1	1,1	7,1	0,863
A2(D-10)^b	2,87	0,97	2,8	1,7	4,5	3,07	1,68	2,6	1	7,5	0,914

^a İki bağımsız örneklem t Testi; ^b Mann-Whitney U Testi; ^c p<0,05

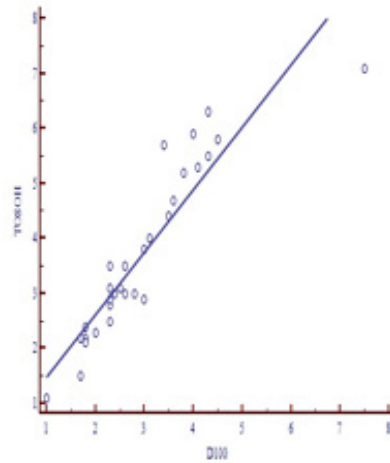
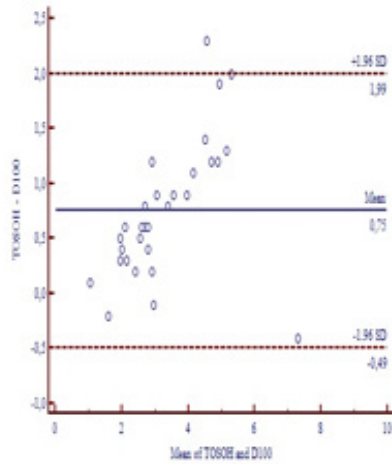
Tablo 2. Cihazlardan elde edilen HbA2 değerlerinin taşıyıcı ve normal gruplara göre farkları

	Taşıyıcı		Normal		P
	(n) Ort±std	Medyan (Min-Max)	n) Ort±std	Medyan (Min-Max)	
TOSOH- HbA2					
(%2,0-%3,5) ^a	(14) 5,1 ± 1,1	5,25 (3,5-7,1)	(16) 2,6 ± 0,5	2,65 (1,1-3,1)	<0,001 ^b
D10-HbA2					
(%2,1-%3,5) ^a	(9) 4,4 ± 0,4	4,1 (3,5-7,5)	(21) 2,3 ± 0,5	2,3 (1-3,4)	<0,001 ^b

^aReferans aralıklar; ^b p<0,05; Mann-Whitney U Testi

Tablo 3. Tosoh HLC 723 G8 - BioRad D100 cihazlarının uyumlarına ait istatistiksel göstergeler

Tosoh-D100	HbA2 (%)
Wilcoxon Eş Testi	$z = -4,487$; $p < 0,001$
Mc Nemar Testi	$p = 0,063$
Korelasyon katsayısı-Spearman's rho	$r = 0,944$; $p < 0,001$
Bias	0,75 %95 GA (0,51-0,99) Alt Limit: -0,49; Üst Limit: 1,99
Sınıfıçı korelasyon katsayısı	0,898 (%95 GA 0,798-0,950)
Uyum korelasyon katsayısı	0,783 (%95 GA 0,643-0,872)
Kappa katsayısı	0,658 (%95 GA 0,4-0,915); $p < 0,001$



Şekil 1. A) Bland-Altman grafiği

B) Youden grafiği

TARTIŞMA

Türkiye’de yaklaşık 1.300.000 talasemi taşıyıcısı ve 4.500 kadar talasemi hastası vardır (5). Ülkemizde B-talasemi taşıyıcılığı sıklığı %2.1 dolayındadır. Bu sayı farklı bölgelerde artmakta, taşıyıcılık sıklığı %13’e kadar yükselmektedir (Antalya %13, Edirne %6.4, Urfa %6.4, Aydın %5.1, Antakya %4.6, İzmir %4.8, Muğla %4.5, İstanbul %4.5) (3). Bu açıdan doğru HbA2 ölçümü bu kalıtsal hastalığın önlenmesinde çok önemli bir yere sahiptir. Dünyada da nüfus hareketliliği nedeniyle HbA2 ölçüm yöntemlerine artan bir ilgi mevcuttur (8). Günümüzde kullanımı ve yorumlama kolaylığı nedeniyle hemoglobin varyantlarının tespiti için HPLC tekniğinin kullanılması tercih edilir olmuştur. Dünyada hemoglobin varyantları taranması için birkaç ticari HPLC yöntemi bulunmaktadır (2).

Fleiss, uyumun çok iyi olması için SKK’nın 0.90’ın üzerinde olması gerektiğini bildirmiştir (15). Lin ise UKK’nın 0.90-0.95 arasında bulunmasını “orta dereceli uyum” olarak değerlendirmiştir (11, 12). Buna göre iki cihaz arasında HbA2 uyumunun çok iyi olmadığı anlaşılmaktadır.

CLSI (Clinical Laboratory Standarts Institute)’nin metot karşılaştırma protokolüne (EP-9) göre korelasyon katsayısının, tek başına yeterli olmamakla birlikte, 0.97’ten büyük olması önerilmektedir (16). Buna göre bulunan korelasyon katsayısının yeterli uygunlukta olmadığı görülmektedir. Bu değerler güven aralıklarına göre değerlendirildiğinde iki cihazın HbA2 ölçümü için uyumsuz oldukları ve HbA2 değerleri bakımından iki cihaz arasında anlamlı fark olduğu gözlenmektedir.

Çalışmamızda kullanılan iki HPLC cihazı arasındaki farklar sonuçlara da yansımış olabilir. Her şeyden önce iki cihazın kalibrasyon metotları birbirinden farklıdır. Sistem 1 cihazında Hb A2, Hb F ve Hb A1c kalibrasyonu yapılırken; Sistem 2 cihazında Hb A2 ve Hb F kalibrasyonu yapılmaktadır. Ayrıca her iki cihazda da hemoglobinlerin birlikte elüe olmaları söz konusudur. Sistem 1 cihazında Hb D ve Hb E, Hb A2 ile birlikte elüe olabilir ve Hb F %16’nın üzerindeyken HbA1c ile birlikte elüe olabilir. Sistem 2 cihazında ise Hb E Hb A2 ile birlikte elüe olmaktadır. Sistem 1 cihazında iki farklı tuz konsantrasyonu ve pH’a sahip elüsyon tamponu kullanılırken ve Sistem 2 cihazında üç farklı elüsyon tamponu kullanılmaktadır. Her iki cihazda da demir eksikliği anemisi hastalardaki Hb A2 yüksekliğini maskeleyebilmektedir.

Tanımlanmış bir referans sistemi ve ortak bir kalibrasyon materyali olmadığından çeşitli HbA2 yöntemlerin uyumsuzluğu bir sürpriz değildir. Bu amaçla son yıllarda IFCC bünyesinde HbA2 standardizasyon çalışma grubu oluşturulmuştur(8).

Çalışmamızın zayıf yönü hemoglobin A2 ve F ölçümünde altın standart olan kolon kromatografisi ve alkali denatürasyon ile karşılaştırılmamasıdır. Aynı şekilde kapiller elektroforez ile de karşılaştırma yapılmadı. Diğer taraftan bu yöntemler rutin laboratuvarlarda çok nadiren kullanılmaktadır.

Sonuç olarak, yaptığımız istatistiksel analizlere göre Sistem 1 ve Sistem 2 HPLC cihazları arasında HbA2 yönünden uyumun yeterli olmadığını bulduk. HbA2 gibi tanısal değeri olan bir parametre çalışılırken, rutin laboratuvar sürecinde HPLC cihazları arasında değerlendirme farkları olabileceğini göz önünde bulundurmak gerektiğini vurgulamak isteriz.

KAYNAKLAR

1. Alphabetical hemoglobin variants list. Hemoglobin, 1996; 20(3): 313-35.
2. Gosselin RC, Carlin AC, Dwyre DM. Comparison of the BioRad Variant and Primus Ultra2 high-pressure liquid chromatography (HPLC) instruments for the detection of variant hemoglobins. Int Jnl Lab Hem, 2011; 33: 159-67
3. Sönmez Ç, Kaymak AÖ, Güntaş G. Halk sağlığı problemi olan talasemilerde laboratuvar. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(4): 221-28.
4. Ellidağ HY, Eren E, Tosun SA, Yılmaz N. Talasemi taramasında Primus Ultra2 Analyzer ve Tosoh HLC-723 G8 HPLC sistemlerinin karşılaştırılması. Türk Klinik Biyokimya Derg, 2013; 11(3): 99-104.
5. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: Review and update. Clin Chem, 2000; 46: 1284-90.
6. Rund D, Rachmilewitz E. B-Thalassemia. N Engl J Med, 2005; 353: 1135-46.
7. Çatak B, Sütü S, Kılınç S, Badıllıoğlu O, Canatan D. Burdur'da ilköğretim 8. sınıflarda B-talasemi taşıyıcılık sıklığı. Cumhuriyet Med J, 2013; 35: 193-8.
8. Paleari R, Gulbis B, Cotton F, Mosca A. Inter laboratory comparison of current high-performance methods for HbA2. Int Jnl Lab Hem, 2012; 34: 362-8
9. Greene DN, Pyle AL, Chang JS, Hoke C, Lorey T. Comparison of Sebia Capillary Flex capillary electrophoresis with the Bio Rad Variant II high pressure liquid chromatography in the evaluation of hemoglobinopathies. Clin Chim Acta, 2012; 413: 1232-8
10. Anonymous. The laboratory diagnosis of haemoglobinopathies, Br J Haematol, 1998; 101(4): 783-92.
11. Lawrence I, Lin K. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. Biometrics, 1989; 45(1): 255-68.
12. Statistical Calculators, Lin's Concordance: <http://www.niwa.co.nz/online-services/statistical-calculators/concordance>. (31.1.2016)
13. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet, 1986; I: 307-10.
14. Viera AJ, Garrett JM. Understanding inter observer agreement: the kappa statistic. Family Medicine, 2005; 37(6): 360-63.
15. Fleiss JL. The design and analysis of clinical experiments. New York, John Wiley and Sons, 1986: 1-32.
16. A Good Example. http://www.medical.siemens.com/siemens/nl_NLDIAG/gg_diag_FBAs/files/EP_Evaluator/Webinars/02-EE9-Mods-FALL_2010.pdf (15.1.2016)