

# ارزش تشخیصی و استانداردسازی هموگلوبین A1c

• دکتر ممد رضا بختیاری

(دکتری علوم آزمایشگاهی، متخصص بیوتکنولوژی پزشکی)

عضو هیئت علمی پژوهشکده زیست فناوری سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران

[bakhtiari@irost.org](mailto:bakhtiari@irost.org)

## خلاصه

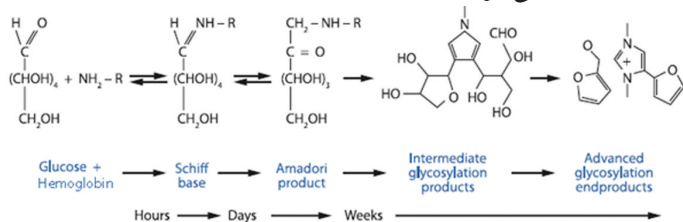
ترجمه پروتئینها<sup>۲</sup> محسوب می‌گردد [۲، ۳]. بدیهی است چنانچه این تغییرات بیش از حد باشد می‌تواند در بسیاری از پروتئینها تغییرات در عملکرد و خواص آنتی‌ژنیک ایجاد نموده و بخش اعظم عوارض دیابت را ناشی از این پدیده می‌دانند که از این میان عوارض قلبی - عروقی [۴، ۵]، نورولوژیک [۶] و ایمونولوژیک [۷] از اهمیت زیادی برخوردار است [۸].

## تاریخچه کشف HbA1c

اولین بار در سال ۱۹۵۸ میلادی Huisman و Meyering با روش کروماتوگرافی هموگلوبین A1c را از سایر اشکال هموگلوبین جداسازی نمودند [۹]. ده سال بعد یعنی ۱۹۶۸ دکتر رهبر<sup>۳</sup>، هنگامی که استاد ایمونولوژی دانشگاه تهران بود و بر روی بیماری هموگلوبین H به روش الکتروفورز مطالعه می‌کرد برای اولین بار در دنیا اثبات کرد که HbA1c در جریان بیماری دیابت ملیتوس افزایش می‌یابد [۱۰، ۱۱] و سال بعد در دوره پسادکتری خود در امریکا ساختار آن را تعیین نمود [۱۲]. سپس Bunn و همکارانش در ۱۹۷۵ واکنش شیمیایی - غیرآنزیمی قندی شدن هموگلوبین را توصیف نمودند [۱۳]. سرانجام سال ۱۹۷۶ بود که Cerami و همکارانش پیشنهاد کردند که با اندازه‌گیری منظم HbA1c می‌توان متابولیسم گلوکز را در بدن پایش کرد [۱۴]. مجموعه نتایج این تحقیقات کلیدی بود که باب نوین و بسیار جالب توجهی را در مطالعات دیابت مفتوح نمود.

## واکنشهای قندی شدن هموگلوبین

در شکل ۱ واکنشهای شیمیایی قندی شدن هموگلوبین مشاهده می‌شود:



## شکل ۱ - قندی شدن هموگلوبین [۱۵]

همانطور که در شکل دیده می‌شود در ابتدا گروه آلدهیدی گلوکز با گروه‌های آمین زنجیره‌های هموگلوبین باز شیف ایجاد

سالهای متمادی است که اندازه‌گیری هموگلوبین A1c یا HbA1c برای پایش و کنترل بیماری دیابت ملیتوس شناخته شده است. این آنالیت منعکس کننده گلوکز میانگین طی ۲ تا ۳ ماه گذشته در خون بیمار بوده و میزان آن با عوارض دیابت بر عروق کوچک و تا حد کمتری عروق بزرگ همبستگی مستقیم دارد. از اینرو تعیین درصد آن بطور گسترده‌ای جهت مدیریت میزان گلوکز خون در بیماران شناخته شده بکار می‌رود. از سال ۲۰۰۹ کمیته‌ای بین‌المللی بر مبنای شواهد فراوان همه‌گیری‌شناسی توصیه نمود که از اندازه‌گیری HbA1c می‌توان برای تشخیص اولیه بیماری دیابت ملیتوس نیز استفاده کرد. اما به این شرط که روش اندازه‌گیری استاندارد و تأیید شده باشد. در مقاله پیش‌رو سعی بر این است که ضمن مرور ساختار و ارزش تشخیصی HbA1c، به بررسی مسائل قابل توجه مربوط به استانداردهای اندازه‌گیری آن پرداخته شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت، تشخیص، هموگلوبین قندی شده،

HbA1c

## مقدمه

هموگلوبین A1c به لحاظ شیمیایی عبارت است از واکنش غیرآنزیمی قندی شدن<sup>۱</sup> اسید آمینه والین انتهایی زنجیره‌های بتای ملکول هموگلوبین می‌باشد [۱]. در واقع زنجیره‌های هموگلوبین مانند بسیاری از پروتئینها در بدن در اثر یک سری واکنشهای غیرآنزیمی با ملکولهای گلوکز راه یافته به درون گلبولهای قرمز ترکیب شده و به هموگلوبین قندی شده پایدار تبدیل می‌گردند بطوریکه هر قدر غلظت گلوکز و مدت زمان مواجهه آن با هموگلوبین بیشتر باشد، درصد بالاتری از هموگلوبین قندی می‌شود که تا پایان عمر گلبولهای قرمز در آن باقی می‌مانند. لذا هر قدر درصد هموگلوبین قندی شده بیشتر باشد نشان دهنده عدم یا ضعف کنترل میزان قند خون بیمار در دو یا سه ماه گذشته می‌باشد.

هموگلوبین قندی شده می‌تواند شاخصی از میزان قندی بودن

سایر پروتئینها باشد چون هموگلوبین تنها پروتئین بدن نیست که قندی می‌شود بلکه این فرآیند تقریباً برای تمام ملکولهای پروتئینی داخل و خارج سلولی رخ می‌دهد و اصولاً نوعی تغییرات پس از

## 1. Glycation

۳. دکتر ساموئل رهبر پزشک ایرانی است که شهرت جهانی داشته و در حال حاضر در قید حیات است. وی در موسسه "شهر امید" ایالت کالیفرنیا آمریکا با عنوان پروفیسور دیابت و متابولیسم مشغول فعالیت است.

(<http://www.cityofhope.org/directory/people/rahbar-samuel/Pages/default.aspx>)

## 2. Post Translational Modifications of Proteins



Hemoglobin		
HbF [0.5%]	HbA [97%]	
	HbA0 [93 - 95%]	HbA1 [5 - 6.5%]
	HbA1a [0.5%]	HbA1b [0.5%]
		HbA1c [4 - 5.5%]

### جدول ۱- درصد تقریبی هموگلوبینهای مختلف در افراد سالم غیردیابتی [منبع اعداد ۱۷، ۱۸]

لازم به ذکر است که انجمن بین المللی شیمی بالینی (IFCC) با تکیه بر نظرات گروه کاری خود معتقد به مواردی است که برخی از آنها در زیر آمده است [۱۹]:

- **HbA1c** آنالیتی است که بطور برگشت ناپذیر از طریق یک یاهر دو والین انتهایی زنجیره بتای هموگلوبین گلیکته شده است.
- طیف نگاری جرمی<sup>۷</sup> و الکتروفورز موینه‌ای<sup>۸</sup> روشهای مرجع اندازه‌گیری **HbA1c** می‌باشند و سایر روشها باید بر اساس روشهای مرجع کالیبره شوند.
- اندازه‌گیری و نحوه گزارش نتایج **HbA1c** باید در سراسر جهان استاندارد شود.
- نتایج اندازه‌گیری **HbA1c** با واحد mmol/mol گزارش می‌شود. البته براساس درصد هم می‌تواند گزارش شود.
- می‌توان برای تفسیر نتایج **HbA1c** میانگین گلوکز تخمینی<sup>۹</sup> برگرفته از **HbA1c** را گزارش نمود.

### هموگلوبین A1c به عنوان وسیله‌ای برای تشخیص دیابت

از سال ۱۹۹۷ کمیته‌ای به نام کمیته بین‌المللی خبرگان (IEC)<sup>۱۰</sup> متشکل از نمایندگان انجمن دیابت امریکا<sup>۱۱</sup>، انجمن اروپایی مطالعات دیابت<sup>۱۲</sup> و فدراسیون بین المللی دیابت<sup>۱۳</sup> تشکیل شد تا ملاکهای تشخیص و طبقه‌بندی بیماری دیابت را تعیین نماید. در گزارش ۲۰۰۸ این کمیته پیشنهاد شد استفاده از **HbA1c** برای تشخیص دیابت مد نظر قرار گیرد [۲۰].

در نقطه نظر رسمی سال ۲۰۱۰ انجمن دیابت امریکا<sup>۱۱</sup>، برای اولین بار **HbA1c** به عنوان یکی از ملاکهای تشخیصی دیابت ملتوس ذکر گردید و بیان شد چنانچه غلظت آن برابر ۶/۵ درصد یا بیشتر باشد یکی از ملاکهای آزمایشگاهی تشخیص قطعی بیماری است [۲۱] که البته این نقطه نظر در بیانیه سال ۲۰۱۱ انجمن نیز عیناً تکرار شده است [۱۸].

این موضوع تحولی مهم در دیابتولوژی محسوب می‌شود، زیرا اولاً سالهای متمادی بود که از سه ملاک میزان گلوکز پلاسما در حالت ناشتا [ $FPG \geq 126 \text{ mg/dL}$ ]، میزان گلوکز پلاسما به صورت غیر ناشتا یا تصادفی [ $RPG \geq 200 \text{ mg/dL}$ ] و در نهایت میزان گلوکز

می‌کند که آلدایمین ناپایداری است و می‌تواند در یک واکنش تعادلی تجزیه شده و به ملکولهای اولیه برگردد و یا واکنش به سمت راست پیشروی کرده و با جابجایی باند مضاعف از حالت کربن = نیتروژن به کربن = اکسیژن، باز شیف مذکور به ملکول دیگری به نام محصول آمادوری تبدیل گردد که یک کیتوآمین است. این واکنش نیز تعادلی است و بر اساس اصل لوشاتلیه چنانچه غلظت گلوکز در دسترس زیاد باشد باز شیف افزایش یافته و واکنش بطور کلی به سمت راست میل کرده و لذا محصولات حدواسط و نهایی گلیکاسیون که بسیار پایدار هستند تولید می‌شوند [۱۵].

از آنجائیکه واکنشهای فوق غیرآزمی است، نباید واژه گلیکوزیلاسیون<sup>۴</sup> به آنها اطلاق شود بلکه واژه گلیکاسیون صحیح است.

### انواع هموگلوبین قندی شده و روشهای اندازه‌گیری آنها

همانطور که می‌دانیم هموگلوبین اصلی در بالغین **HbA** است. آن بخش از هموگلوبین **A** را که طبق واکنش فوق قندی شده **HbA1** و بقیه را که قندی نشده **HbA0** می‌نامند. بدیهی است وقتی گروه های آمین با قند درگیر می‌شوند از بار مثبت هموگلوبین کاسته شده<sup>۵</sup> و انتظار داریم در کروماتوگرافی تعویض کاتیون، جزء **HbA1** با سرعت بیشتری نسبت به **HbA0** حرکت کرده و از ستون خارج شود؛ یا در الکتروفورز هموگلوبین روی ژل استات سلولز ( $pH=8.4$ )، باند **HbA1** سریع‌تر از **HbA0** حرکت کند، که این موارد اساس تعیین نسب **HbA1 / HbA0** را براساس بار الکتریکی تشکیل می‌دهند.

البته از روشهای کروماتوگرافی تمایلی، شیمیایی و ایمونولوژیک هم می‌توان برای اندازه‌گیری استفاده نمود [۱۶]. هموگلوبین قندی شده یا **HbA1** خود حداقل از سه جزء اصلی تشکیل می‌شود که عبارتند از **HbA1a**، **HbA1b**، و **HbA1c**. اختلاف این سه در نوع قند متصل شده به هموگلوبین است به عنوان مثال قند **HbA1a** فروکتوز ۱-۶-دی- فسفات یا گلوکز-۶- فسفات است که به ترتیب **HbA1a1** و **HbA1a2** نام دارند. یا در **HbA1c** قند از نوع D-گلوکز است. از آنجائیکه گروه‌های فسفات در فروکتوز ۱-۶-دی- فسفات یا گلوکز-۶- فسفات خود دارای بار منفی هستند، لذا **HbA1a** در روشهای فوق‌الذکر سریع‌تر از **HbA1c** حرکت می‌نماید.

درصد اصلی هموگلوبینهای قندی شده را **HbA1c** تشکیل می‌دهد بطوریکه درصد **HbA1a** و **HbA1b** ناچیز بوده و ارتباط این دو با کنترل گلوکز مبهم است. جدول ۱ درصد تقریبی هموگلوبینهای مختلف را در افراد سالم غیردیابتی نشان می‌دهد:

4. Glycosilation  
5. Less charge positivity  
6. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)  
7. Mass Spectroscopy  
8. Capillary Electrophoresis  
9. Estimated Average Glucose (eAG)

10. International Expert Committee (IEC)  
11. American Diabetes Association (ADA)  
12. European Association for the Study of Diabetes (EASD)  
13. International Diabetes Federation (IDF)  
14. ADA position statement



مزمّن، از دست دادن شدید خون یا انتقال خون. در این موارد سابقه بیمار بسیار کمک کننده است.

- افزایش HbA1c با بالا رفتن سن که به نظر می‌رسد به عواملی غیر از متابولیسم گلوکز مرتبط است. در سالخوردگان می‌توان نتایج بالا را با سایر روشها تأیید کرد.
- تغییرات سطح HbA1c در نژادهای مختلف که نقش تنوع ژنتیکی را مطرح می‌سازد و البته به نظر می‌رسد این تغییرات ناچیز باشد.
- برای تشخیص دیابت بارداری به دلیل تغییرات turnover گلبولهای قرمز، نمی‌توان از HbA1c استفاده کرد.

### نکات مهم استانداردسازی روشهای اندازه‌گیری HbA1c

- دو نهاد برجسته و شناخته شده برای استانداردسازی HbA1c وجود دارد که یکی IFCC و دیگری NGSP<sup>۱۶</sup> است.
- وجوه مشترک زیادی بین نظرات IFCC و NGSP در مورد اندازه‌گیری HbA1c وجود دارد. البته مواردی هم اختلاف نظر دارند که شاید یکی از مهمترین آنها واحد بکاررفته برای گزارش میزان HbA1c باشد. همانطور که قبلاً ذکر شد واحد پیشنهادی IFCC عبارت است از mmol/mol در حالیکه واحد توصیه شده NGSP درصد HbA1c است که البته با رابطه ذیل می‌توان این دو واحد را به یک دیگر تبدیل نمود [۱۹]:  
$$NGSP[\%] = [0.09148 * IFCC[mmol/mol]] + 2.152$$
- کمیته بین‌المللی خبرگان (IEC) بطور عمده براساس نظرات دو نهاد فوق‌الذکر تأکید می‌نماید:
  - برای گزارش HbA1c از هر دو واحد IFCC و NGSP استفاده شود.
  - برای تشخیص دیابت، اندازه‌گیری HbA1c با روشها و تجهیزات برابری<sup>۱۷</sup> صحیح نیست.
  - لازم است اندازه‌گیری HbA1c با استفاده از روشها، کیتها و تجهیزاتی صورت گیرد که توسط NGSP تأیید شده است [۱۸، ۲۱].
  - شرکتهای تولیدکننده محصولات مختص اندازه‌گیری HbA1c خود را بطور منظم به NGSP ارایه می‌دهند که در صورت اخذ تأییدیه نام و مشخصات کامل این محصولات در سایت رسمی NGSP قرار گرفته و بروز می‌شود [۲۵].
- با توجه به خطای کمتر پری‌آنالیتیک و آنالیتیک، اندازه‌گیری HbA1c مزایای بیشتری نسبت به گلوکز دارد البته در صورتی که تمام نکات استاندارد رعایت گردد [۱۸].
- برای بررسی اثرات هموگلوبینهای غیرطبیعی بر کارایی روشها و تجهیزات گوناگون اندازه‌گیری HbA1c می‌توان به سایت NGSP مراجعه نمود [۲۶].
- برای محاسبه میانگین گلوکز تخمینی می‌توان از رابطه زیر استفاده کرد [۱۹]:  
$$eAG (mg/dl) = [28.7 * HbA1c (\%)] - 46.7$$

پلاسما دو ساعت پس از خوردن ۷۵ گرم گلوکز [2-h PG  $\geq$  200 mg/dL] برای تشخیص دیابت استفاده می‌شد که شرایط استاندارد این تستها را قبلاً در مقاله‌ای به تفصیل بیان نمودیم [۲]. ثانیاً آزمایش HbA1c تا این زمان تنها برای پایش درمان و وضعیت کنترل گلوکز در بیماران دیابتی به کار می‌رفت و علی‌رغم مقالاتی که بسته و گریخته منتشر می‌یافت که در آنها پیشنهاد می‌شد به دلیل مزایای اندازه‌گیری HbA1c نسبت به گلوکز می‌توان از آن برای تشخیص دیابت استفاده نمود [۲۲، ۲۳، ۲۴]، اما عموماً کمتر کسی تصور می‌کرد بتوان از آن به عنوان آزمونی تشخیصی در دیابت استفاده کرد.

نکته قابل توجه اینکه در آخرین نقطه نظر انجمن دیابت امریکا مربوط به سال ۲۰۱۱ تأکید شده است [۱۸] که گرچه عدد ۶۵ درصد به عنوان مرز تشخیص دیابت بیان می‌شود ولی افرادی که HbA1c آنها بین ۶ تا ۶۵ درصد است تا حد زیادی (با احتمال چندین برابر) در معرض ابتلا به دیابت خواهند بود. حتی کسانی که HbA1c آنها بین ۵/۵ تا ۶ درصد باشد سه تا هشت برابر بیشتر محتمل است که در آینده به دیابت مبتلا شوند. بنابراین برای اولین بار اعلام شده است که در این افراد، یعنی HbA1c بین ۵/۵ تا ۶، هم باید اقدامات پیشگیری از دیابت را آغاز نمود.

به عنوان نتیجه‌گیری انجمن دیابت امریکا در نقطه نظر ۲۰۱۱ خود توصیه کرده چنانچه HbA1c بین ۵/۷ تا ۶/۴ درصد باشد، می‌توان اصطلاح پیش-دیابت<sup>۱۵</sup> را بکار برد چون ریسک ابتلا به دیابت آشکار در این حالات زیاد است [۱۸].

### نقاط قوت و ضعف HbA1c برای تشخیص دیابت

- در منابع گوناگون مزایای زیاد و معایب قابل توجهی برای استفاده از HbA1c در تشخیص بیماری دیابت ملیتوس ذکر می‌گردد [۱، ۱۸، ۲۱، ۲۲] که از میان مزایا می‌توان به موارد زیر اشاره داشت:
  - عدم نیاز به ناشتا بودن بیمار
  - پایداری بیشتر HbA1c در نمونه نسبت به گلوکز
  - پایین بودن ضریب تغییرات HbA1c در هر فرد و نیز بین افراد (پایداری زیست شناختی)
  - همبستگی مستقیم قابل قبول (تر) بین غلظت HbA1c و عوارض هیپرگلیسمی
  - وجود روشهای اندازه‌گیری استاندارد
- اما در مورد هشدارها می‌توان به موارد ذیل اشاره داشت:
  - برخی از هموگلوبینهای غیرطبیعی می‌توانند در روشهای اندازه‌گیری HbA1c تداخل ایجاد نمایند. مثلاً هموگلوبینهای S، C، F، و E می‌توانند در برخی از روشهای سنجش اشکال ایجاد کنند. در این موارد روشهای کروماتوگرافی تمایلی کمک کننده خواهند بود.
  - هر علتی که باعث تغییر در طول عمر گلوبول قرمز شود، نتایج کاذب ایجاد می‌کند. مانند آنمی‌های همولیتیک، مالاریا

15. Pre-diabetes

16. National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)

17. Point-Of-Care Tests (POCT)



آزمایشگاهی در وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به این امر مهم توجه لازم را معطوف دارند.  
 ۳. همکاران مؤسس و مسئول فنی آزمایشگاه‌های تشخیص پزشکی در سراسر کشور هنگام سفارش و خرید محصولات مرتبط با اندازه‌گیری HbA1c حساسیت لازم را داشته باشند و تنها محصولاتی را خریداری نمایند که بر روی سایت NGSP در فهرست موارد تأیید شده موجود باشند.  
 باشد که با رعایت این امر بسیار مهم کیفیت اندازه‌گیری و گزارش نتایج HbA1c در کشور به حد استانداردهای لازم برسد.

نظر به اهمیت بحث تشخیص و پایش دیابت ملیتوس، توصیه و به عبارت بهتر تقاضای نگارنده مقاله حاضر آن است که مادامیکه استاندارد ملی اندازه‌گیری HbA1c در کشور تعیین و اجرایی نشده است، استاندارد NGSP ملاک عمل قرار گیرد. برای نیل به این هدف والا رعایت نکات ذیل به صلاح است:  
 ۱. شرکتهای وارد کننده تلاش کنند برای واردات محصولاتی سرمایه‌گذاری نمایند که تأییدیه NGSP را داشته باشند.  
 ۲. مقامات مسئول صادر کننده مجوز واردات مواد و تجهیزات

## References

- 1- Braga F, et al. Biological variability of glycated hemoglobin, *Clinica Chimica Acta* 411: 1606–1610, 2010
- 2- Bakhtiari, MR. The latest criteria for classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Laboratory & Diagnosis*, 2( 6): 7-14, 2010
- 3- Mossalaiee MM. Measurement of fructoseamine in diabetic patients. *Clinical Laboratory Doctorate Dissertation*, Shahid Beheshti Univ-er. Tehran, Iran, 1993
- 4- Hadaegh F, Shafiee G, Ghasemi A, Sarbakhsh P, and Azizi F. Impact of metabolic syndrome, diabetes and prediabetes on cardiovascular events: Tehran Lipid and Glucose Study. *Diabetes res. clin. prac.* 8 (7): 342 – 347, 2010
- 5- Gossain VV, Aldasouqi S. The challenge of undiagnosed pre-diabetes, diabetes and associated cardiovascular disease. *Int'l J diabetes mellitus*, 2: 43-46, 2010
- 6- Ristow M. Neurodegenerative disorders associated with diabetes mellitus. *J Mol Med.* 82: 510-529, 2004
- 7- Bakhtiari MR. Assessment of T-lymphocytes proliferative responses to PHA & Con-A in patients with NIDDM. *Clinical Laboratory Doctorate Dissertation*, Shahid Beheshti Univ-er. Tehran, Iran, 1993
- 8- Bakhtiari, MR, Fallahpour M. Molecular mechanisms of diabetes mellitus complications. *Proceedings of 2nd international & 7th national congress on quality improvement in clinical laboratories.* O69, 20-23 April 2009
- 9- Huisman TH, Martis EA, Dozy A. Chromatography of hemoglobin types on carboxymethylcellulose. *J. Lab. Clin. Med.* 52 (2): 312–27, 1958
- 10- Rahbar S. Hemoglobin H disease in two Iranian families. *Clinica Chimica Acta.* 20 (3): 381-385, 1968
- 11- Rahbar S, Paulsen E, and Ranny HM. Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus. *Diabetes* 18 Suppl. (1), 332, 1969
- 12- Rahbar S, Blumenfeld O, Ranney HM. Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 36 (5): 838–43, 1969
- 13- Bunn HF, Haney DN, Gabbay KH, Gallop PM. Further identification of the nature and linkage of the carbohydrate in hemoglobin A1C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 67(1): 103–9, 1975
- 14- Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, Saudek C, Lehrman M, Cerami A. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 295 (8): 417–20, 1976
- 15- Mayo Medical Laboratories. Hemoglobin A1C: Diabetes Diagnosis and Management. <http://www.mayomedicallaboratories.com/articles/communique/2009/09.html>
- 16- Nitin S. HbA1C and factors other than diabetes mellitus affecting it. *Singapore Med G.* 51(8): 616-622, 2010
- 17- Patric JP, Phillipov G. A1C- Frequently asked questions. *Austral. Fami. Physic.* 34(8): 663-667, 2005
- 18- American Diabetes Association, Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes care*, 34(1) Supl. 1: S62-S69, 2011
- 19- [www.ifcc.org](http://www.ifcc.org)
- 20- The international expert committee. International expert committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 32(7): 1-8, 2009
- 21- American Diabetes Association, Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes care*, 33(1) Supl. 1: S62-S69, 2010
- 22- Kilpatrick ES, HbA1C or glucose for diabetes diagnosis?. *Ann Clin Biochem.* 42(3): 165-6, 2005
- 23- Davidson MB, Peters AL, Schriger DL. An alternative approach to the diagnosis of diabetes with a review of the literature. *Diabetes Care.* 18(7): 1065-71, 1995
- 24- Saudek CD, Herman WH, Sacks DB, Bergenstal RM, Edelman D, Davidson MB. A new look at screening and diagnosing diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 93(7): 2447-53, 2008
- 25- [www.ngsp.org/certified.asp](http://www.ngsp.org/certified.asp)
- 26- [www.ngsp.org/prog/factors.htm](http://www.ngsp.org/prog/factors.htm)

