

Comparison Study of The Results of Glycosylated Hemoglobin Assay by Two Methods of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Fluorescence Immunoassay (FIA)

Dr. Faisal Radwan^{*}

Dr. Youssef Zriek^{**}

Sarah Muhammed Yousef^{***} 

(Received 24 / 2 / 2025. Accepted 15 / 4 / 2025)

□ ABSTRACT □

Background: HbA1c is the gold standard for controlling and monitoring blood glucose levels in diabetic patients, thus detecting disease processes early and preventing complications. Therefore, it was important to shed light on the most important methods used to calibrate HbA1c and choose those that are characterized by reliability, quality and good sensitivity, which ensures high quality laboratory results.

Objectives: Comparison of methods used to measure HbA1c and determine the optimal cut-off values in healthy individuals and diabetic patients using two different methods: high-performance liquid chromatography (HPLC) with one of the immunoassay methods (FIA).

Materials and Method: The research sample included 72 patients with type 2 diabetes mellitus who visited the Endocrinology Clinic at Latakia University Hospital and 42 healthy controls. Their HbA1c and fasting blood sugar were measured using the devices available in the central laboratory at Latakia University Hospital during the period 2022-2023.

Results: The levels of HbA1c measured by HPLC were higher than those measured by FIA, and there was a good direct correlation between the values of HbA1c measured by the two previous methods in the study group, which was statistically significant. The cut-off value was 6.5%, which combined the best sensitivity and specificity when applying HPLC. While the cut-off value was 6.3% when applying FIA for diagnosing diabetes. While the cut-off value was 5.5% when applying HPLC and 5.4% when applying FIA, which are the optimal values for detecting pre-diabetes.

Conclusions: The FIA method is good for measurement but not very accurate while the HPLC method provides more accurate and stable results.

Keywords: HbA1c, FIA, HPLC, Cut-off Value

Copyright  :Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

^{*} Associate Professor - Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Tishreen University, Latakia, Syria.

^{**} Assistant Professor - Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Tishreen University, Latakia, Syria.

^{***} MSc Student - Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Tishreen University, Latakia, Syria. Email sarah.yousef@tishreen.edu.sy

دراسة مقارنة لنتائج مقايصة الخضاب الغلوكوزي بطريقتي الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء والفلورة المناعية

د. فيصل رضوان*

د. يوسف زريق**

ساره يوسف*** 

(تاريخ الإيداع 24 / 2 / 2025. قبل للنشر في 15 / 4 / 2025)

□ ملخص □

خلفية البحث: يعد الخضاب الغلوكوزي معياراً ذهبياً لضبط ومراقبة مستوى غلوكوز الدم لدى مرضى الداء السكري وبالتالي الكشف عن الفعاليات المرضية باكراً والوقاية من المضاعفات لذلك كان من المهم تسليط الضوء على أهم الطرق المستخدمة لمعايرة الخضاب الغلوكوزي واختيار ما يتسم منها بموثوقية ونوعية وحساسية جيدة تؤمن جودة عالية للنتائج المخبرية.

الهدف: مقارنة الطرق المستخدمة لقياس الخضاب الغلوكوزي وتعيين القيم الحدية المثلى لدى الأصحاء ومرضى الداء السكري باستخدام طريقتين مختلفتين الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) مع أحد طرق المقايصة المناعية (FIA).

المرضى والطرائق: شملت عينة البحث 72 مريض سكري نمط ثاني المراجعين لعيادة أمراض الغدد الصم في مستشفى اللاذقية الجامعي و42 أفراد شواهد أصحاء. تمت مقايصة الخضاب الغلوكوزي وسكر الدم الصيامي لهم وذلك باستخدام الأجهزة المتوفرة في المخبر المركزي في مستشفى اللاذقية الجامعي وذلك خلال الفترة 2022-2023

النتائج: كانت مستويات الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة (HPLC) أعلى من مستوياته المقاسة بطريقة (FIA) وكان هنالك علاقة ارتباط طردية جيدة بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بالطريقتين السابقتين لدى مجموعة الدراسة وهي ذات دلالات إحصائية هامة. كانت القيمة الحدية 6,5% قد جمعت بين أفضل حساسية ونوعية عند تطبيق طريقة (HPLC). بينما كانت القيمة الحدية 6,3% عند تطبيق طريقة (FIA) وذلك من أجل تشخيص الداء السكري. بينما كانت القيمة الحدية 5,5% عند تطبيق طريقة (HPLC) و5,4% عند تطبيق طريقة (FIA) هي القيم المثلى من أجل الكشف عن مرحلة ما قبل السكري.

الاستنتاجات: طريقة (FIA) جيدة للقياس ولكنها غير دقيقة تماماً بينما توفر طريقة (HPLC) نتائج أكثر دقة وثباتاً.

الكلمات المفتاحية: الخضاب الغلوكوزي، الفلورة المناعية، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء، القيمة الحدية.



حقوق النشر: مجلة جامعة تشرين - سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* أستاذ مساعد - قسم الطب المخبري، كلية الطب البشري، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

** مدرس - قسم الطب المخبري، كلية الطب البشري، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

*** طالبة ماجستير - قسم الطب المخبري، كلية الطب البشري، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا. sarah.yousef@tishreen.edu.sy

مقدمة:

الداء السكري: مرض استقلابي يرتفع فيه مستوى سكر الدم مؤدياً إلى تغيرات فيزيولوجية-مرضية ثانوية في العديد من أجهزة الجسم (القلب، الأوعية، الكلية والأعصاب...)

يصنف هذا المرض بحسب الجمعية الأمريكية للداء السكري (ADA) American Diabetes Association إلى أربعة مجموعات رئيسية (1):

- النمط الأول (Type 1 diabetes mellitus (T1DM): وهو السكري الشبابي أو المعتمد على الأنسولين، يحدث بآلية مناعية ذاتية تؤدي إلى تخرّب خلايا بيتا البنكرياسية وبالتالي عوز تام للأنسولين.
- النمط الثاني (Type 2 diabetes mellitus (T2DM): وهو النمط الأشيع، يحدث نتيجة عيوب وراثية واستقلابية مختلفة تؤدي إلى زيادة المقاومة لعمل الأنسولين وانخفاض إفرازه.
- السكري الحلي (Gestational Diabetes Mellitus (GDM): وهو السكري الذي يكتشف بالثلث الثاني من الحمل أو الثالث بدون وجود إصابة واضحة قبل الحمل.
- أنواع خاصة من الداء السكري ناجمة عن أسباب أخرى كالداء السكري عند النضج لدى الشباب-Maturity onset diabetes of the young (MODY)، الداء السكري عند حديثي الولادة، السكري المحرض بالأدوية كالستيروئيدات السكرية أو العلاج الكيماوي، أو التالي لاضطرابات الغدد الصم كضخامة النهايات ومتلازمة كوشينغ...

معايير تشخيص الداء السكري بحسب ال ADA [2]:

- I. سكر الدم الصيامي أكثر أو يساوي 126 ملغ/دل (بعد صيام 8 ساعات على الأقل).
- II. اختبار تحمل الغلوكوز أكثر أو تساوي 200 ملغ/دل.
- III. الخضاب الغلوكوزي أكثر أو يساوي 6.5%.
- IV. عينة عشوائية لسكر الدم أكثر أو تساوي 200 ملغ/دل مع أعراض فرط سكر الدم.

الخضاب الغلوكوزي

يتشكل الخضاب الغلوكوزي عند تعرض الهيموغلوبين لغلوكوز البلازما عن طريق تفاعل الغلكرزة (Glycation) وهو تفاعل غير إنزيمي يجري على مرحلتين: المرحلة الأولى سريعة وعكوسة ترتبط فيها الوظيفة الألدهيدية للغلوكوز مع النهاية الأمينية للفالين من السلسلة بيتا للهيموغلوبين فينتج مركب الدهيدي اميني Aldimine أو (Schiff Base) (Pre HbA1c, labile HbA1c) أما المرحلة الثانية فهي إعادة ترتيب لمركب Aldimine من خلال تفاعل تماثري فينتج Ketoamine يسمى HbA1c ويعد هذا التفاعل غير عكوس [3]، لذلك يعتبر ال HbA1c الاختبار الأكثر استخداماً وقبولاً لمراقبة وضبط نسبة الغلوكوز في الدم عند المصابين بالداء السكري خلال الأشهر الثلاث الماضية (فترة حياة الكريات الحمراء حوالي 120 يوم)، حيث ينصح بإجرائه مرتين في العام عند المرضى الذين يحققون أهداف العلاج، وأربع مرات في السنة (مرة كل فصل) للمرضى غير محققين هذه الأهداف أو الذين بذلوا أدويتهم [4] وعلى هذا النحو فإن HbA1c يؤمن معلومات حول درجة ضبط غلوكوز الدم على المدى الطويل، إلا أن مستويات HbA1c لا تعكس متوسط غلوكوز الدم بدقة، ومن المرجح أنه يتناسب مع المستويات الأخيرة من غلوكوز الدم (30 يوم السابقة) بشكل كبير مقارنة بمستويات الغلوكوز قبل 90-120 يوم [5].

القيم المرجعية للخصاب الغلوكوزي [6]

بموجب الاتحاد العالمي للسكري (IDF) International Diabetes Federation والجمعية الأمريكية للسكري (ADA):

- ✓ المستويات أقل من 5.7 % تعتبر طبيعية.
- ✓ المستويات بين 5.7% - 6.4% (46-39 mmol/mol) هي مقدمات للداء السكري وخطورة زائدة للإصابة بالسكري.
- ✓ المستويات أعلى أو تساوي من 6.5% (48 mmol/mol) هي مشخصة للداء السكري.

الطرق المخبرية لمقايسة الخصاب الغلوكوزي [7]

تتقسم طرائق معايرة الخصاب الغلوكوزي إلى:

- طرائق تعتمد على الاختلاف في الشحنة، مثل الاستشراب المبادل للشوارد Ion-Exchange Chromatography والرحلان الكهربائي الشعري Electrophoresis Capillary.
- طرائق تعتمد على الاختلافات البنوية؛ مثل الاستشراب بالألفة Affinity Chromatography والطرق المناعية والطرق الأنزيمية.

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث:

يقيس الخصاب الغلوكوزي التعرض المزمن لسكر الدم فهو يعد معياراً ذهبياً لضبط ومراقبة مستوى غلوكوز الدم لدى مرضى الداء السكري خلال الأشهر الثلاث الماضية قبل القياس وبالتالي الكشف عن الفعاليات المرضية في مراحل تطورها المبكرة والاختطار المستقبلي للمضاعفات وكذلك من الممكن استخدامه كقيمة تنبؤية تشخيصية حسب الـ ADA. إن الموثوقية التشخيصية لطرق التشخيص المخبري هي التي تحدد اختيار الطرائق ذات الموثوقية التحليلية الجيدة لذلك كان من المهم تسليط الضوء على أهم الطرق المستخدمة لمعايرة الخصاب الغلوكوزي فمن بين الطرائق كثيرة العدد كان يجب اختيار ما يتسم منها بموثوقية ونوعية وحساسية جيدة تؤمن جودة عالية للنتائج المخبرية وبالتالي تحسين الرعاية الطبية.

أهداف البحث:

■ الهدف الأساسي:

مقارنة الطرائق المستخدمة لقياس الخصاب الغلوكوزي من حيث الحساسية والنوعية والدقة التحليلية وبالتالي دراسة موثوقية هذه الطرائق وتعيين القيم الحدية المثلى لقياس مستويات الخصاب الغلوكوزي لدى الأصحاء ومرضى الداء السكري باستخدام طريقتين مختلفتين الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) التي تعد الطريقة المرجعية الذهبية وأحد طرائق المقايسة المناعية: الفلورة المناعية (FIA).

■ الهدف الثانوي:

معايرة الخصاب الغلوكوزي عند مرضى السكري من أجل ضبط جيد لقيم السكر على المدى الطويل ومتابعة الاستجابة على العلاج وتجنب الاختلالات الباكسة. دراسة الارتباط بين مستويات الغلوكوز الصيامي ومستويات الخصاب الغلوكوزي لدى مرضى الداء السكري والأصحاء.

طرائق البحث ومواده:**عينة المرضى وطرائق الدراسة:****معايير الاشتمال:**

مرضى الداء السكري من النمط الثاني المراجعين لعيادة أمراض الغدد الصم في مستشفى اللاذقية الجامعي وذلك خلال الفترة الممتدة 2022-2023.

معايير الاستبعاد:

- مرضى الداء السكري من النمط الاول
- عينات الدم المنحلة
- الأطفال والنساء الحوامل
- المرضى ممن لديهم اعتلالات خضاب وفاقا الدم الانحلالية
- مرضى قصور الكلية
- مرضى فقر الدم (فقر الدم بعوز الحديد وفقر الدم بعوز حمض الفوليك وفقر الدم بعوز Vit.B12)
- ✓ تم جمع عينات الدم الوريدي بمقدار (2-3) مل ضمن أنبوب EDTA لقياس الخضاب الغلوكوزي و(5)مل على أنبوب ليتيوم الهيبارين وذلك لقياس سكر الدم الصيامي وتم تثليل كل من الأنبوبين مع مراعاة جميع الشروط اللازمة لإجراء التحليل.
- ✓ تمت مقايصة HbA1c بطريقة الفلورة المناعية (FIA) Fluorescence Immunoassay والتبادل الشاردي على العمود (HPLC) Ion-Exchange وتمت مقايصة سكر الدم الصيامي لدراسة معامل الارتباط بينه وبين الخضاب الغلوكوزي المقاس بالطرق السابقة المذكورة. وذلك باستخدام الأجهزة المتوفرة في المختبر المركزي لمستشفى اللاذقية الجامعي.

الأجهزة التحليلية المستخدمة:

- مقايصة الخضاب الغلوكوزي باستخدام طريقة الفلورة المناعية: (FIA) جرت المقايصة الكمية باتباع تقنية التألق المناعي باستخدام عتيدة تابعة لشركة Boditech Med الكورية بواسطة جهاز Ichroma II.
- مقايصة الخضاب الغلوكوزي باستخدام طريقة التبادل الشاردي على العمود (HPLC): جرت المقايصة وفق مبدأ كروماتوغرافيا التبادل الشاردي باستخدام جهاز ADAMS A1c HA-8180T/اليابان شركة Arkray.
- معايرة الغلوكوز: استخدمت الطريقة الأنزيمية اللونية لمعايرة الغلوكوز وتم استعمال عتيدة من شركة Biosystem إسبانيا باستخدام جهاز BS-380 / الصين من شركة Mindray.

الدراسة الإحصائية:

التحليل الإحصائي تم إنجازه باستخدام البرنامج IBM SPSS statistics(version20) وجرى التعبير عن القيم باستخدام المتوسط الحسابي $\pm$ الانحراف المعياري.

تم استخدام اختبار Kolmogorov-Smirnov للتأكد من التوزع الطبيعي للبيانات عبر استخدام الاختبارات التالية:

معامل ارتباط بيرسون Pearson correlation لدراسة قوة الارتباط بين المتغيرات المستمرة المدروسة.

منحنى خاصية التشغيل المتلقي ROC وتم حساب المساحة الواقعة تحته AUC لتحديد حساسية ونوعية الطرائق. اختبار Independent T student لدراسة الفرق بين متوسطي مجموعتين مستقلتين. اختبار Chi-square لدراسة العلاقة بين المتغيرات النوعية. اعتبرت النتائج هامة إحصائياً عند $p\text{-value} > 5\%$.

النتائج والمناقشة:

النتائج:

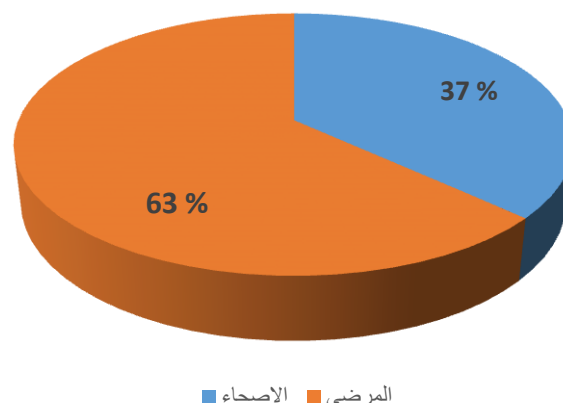
1- توصيف عينة الدراسة

شملت عينة البحث 114 مشاركاً: 72 مريض (35 ذكر، 37 أنثى) تراوحت أعمارهم بين (38-77) عام وبمتوسط (57.86 ± 10.2) عاماً و 42 شاهد (20 ذكر، 22 أنثى) تراوحت أعمارهم بين (25-77) عام وبمتوسط (48.38 ± 13.0) عاماً.

الجدول (1) يوضح خصائص مجموعات الدراسة

		المرضى (72) %63	مجموعة الدراسة N=114
أنثى (37) %51,38	ذكر (35) %48,62		
أنثى (22) %52,39	ذكر (20) %47,61	الشاهد (42) % 37	

كان التوزيع متقارباً بين المجموعتين بحيث كانت النسبة الأعلى لدى الإناث



الشكل (1): النسب المئوية لتوزيع مجموعات الدراسة

2- مقايصة السكر الصيامي لدى مجموعات الدراسة

الجدول(2): نتائج مقايصة سكر الدم الصيامي لدى مجموعات الدراسة

المجموعة	Mean $\pm$ SD	p-value
المرضى N=72	244.41 $\pm$ 10.06 ملغ/دل	0.002
الشاهد N=42	85.38 $\pm$ 8.04 ملغ/دل	

كان متوسط قيم سكر الدم الصيامي أعلى لدى مجموعة المرضى بالمقارنة مع مجموعة الشاهد وكان الفرق بين المجموعتين هام إحصائياً P-value=0.002

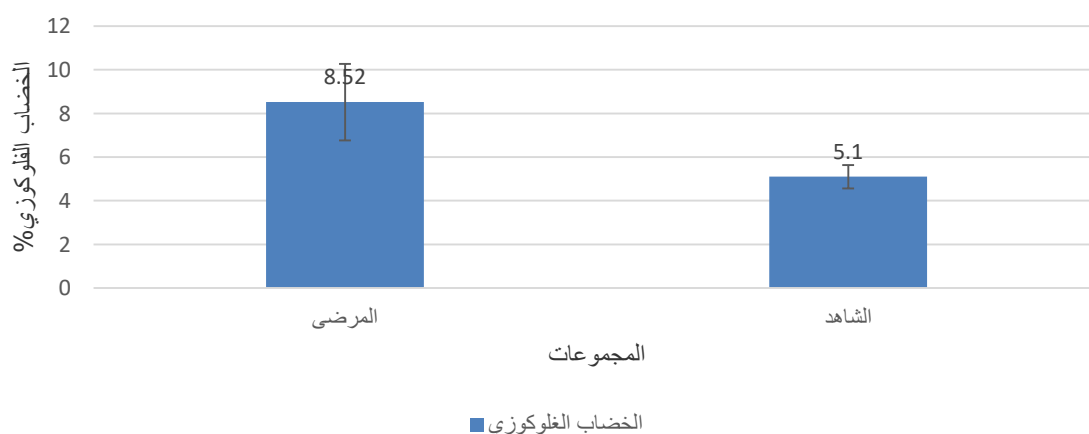
3- مقايصة الخضاب الغلوكوزي بطريقة التبادل الشاردي على العمود

الجدول(3): مقارنة قيمة الخضاب الغلوكوزي بين مجموعة المرضى والشاهد باستخدام طريقة التبادل الشاردي على العمود

المجموعة	Mean $\pm$ SD	الخطأ القياسي	p-value
المرضى N=72	8.52 $\pm$ 1.75	0.20	0.000
الشاهد N=42	5.10 $\pm$ 0.53	0.08	

كان متوسط الخضاب الغلوكوزي أعلى لدى مجموعة المرضى بالمقارنة مع مجموعة الشاهد وكان الفرق بين المجموعتين هام إحصائياً P-value=0.000

الخضاب الغلوكوزي



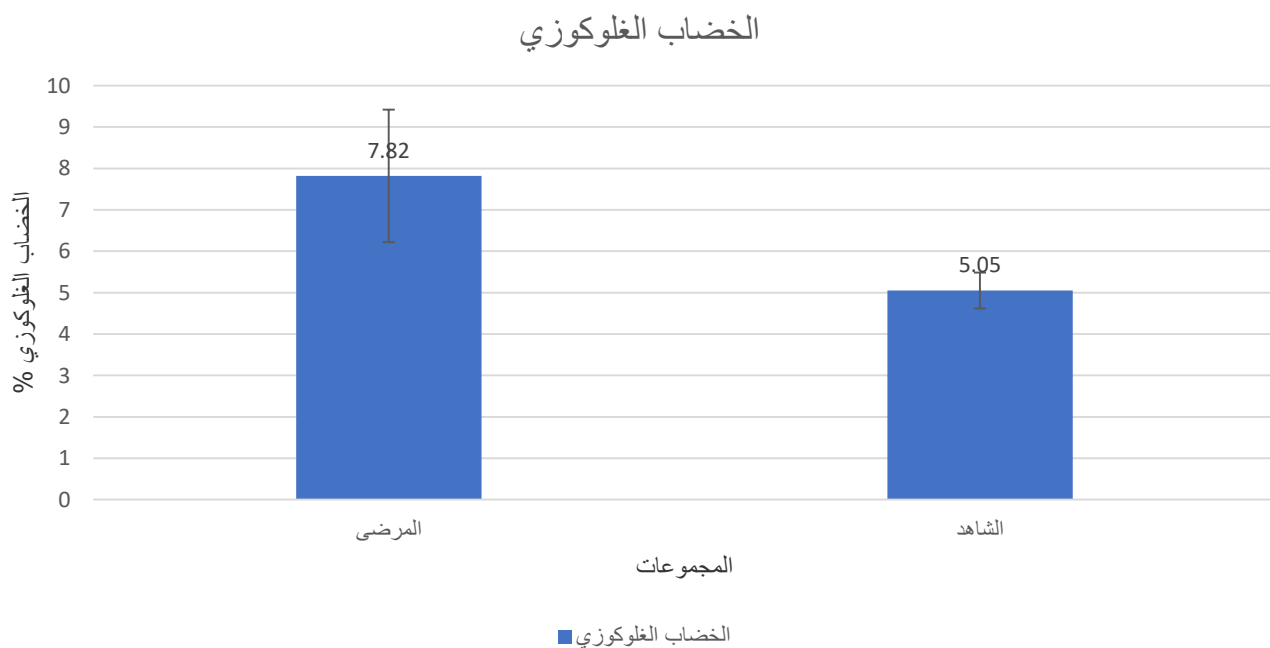
الشكل (2): مقارنة قيمة الخضاب الغلوكوزي بين مجموعة المرضى والشاهد باستخدام طريقة التبادل الشاردي على العمود

4- مقايسة الخضاب الغلوكوزي بطريقة الفلورة المناعية

الجدول (4): مقارنة قيمة الخضاب الغلوكوزي بين مجموعة المرضى والشاهد باستخدام طريقة الفلورة المناعية

المجموعة	Mean $\pm$ SD	الخطأ القياسي	p-value
المرضى N=72	7.82 $\pm$ 1.60	0.18	0.000
الشاهد N=42	5.05 $\pm$ 0.43	0.06	

كان متوسط الخضاب الغلوكوزي أعلى لدى مجموعة المرضى بالمقارنة مع مجموعة الشاهد وكان الفرق بين المجموعتين هام إحصائياً P-value=0.000



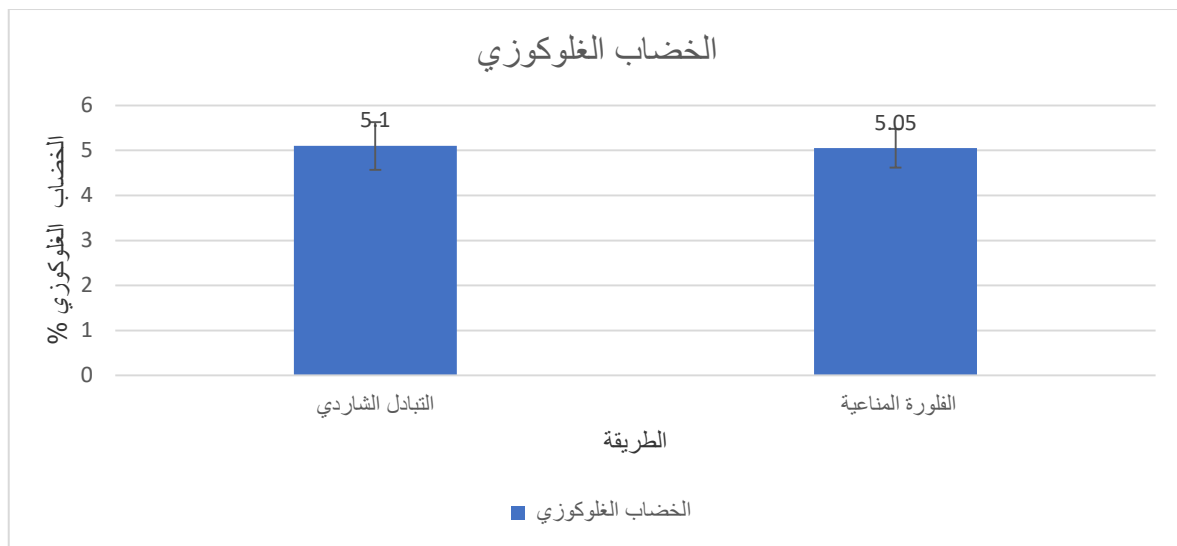
الشكل (3): مقارنة قيمة الخضاب الغلوكوزي بين مجموعة المرضى والشاهد باستخدام طريقة الفلورة المناعية

5- مقايصة الخضاب الغلوكوزي باستخدام الطريقتين لدى مجموعة الشاهد

الجدول(5): مقارنة قيمة الخضاب الغلوكوزي بين طريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية لدى مجموعة الشاهد

الطريقة	Mean $\pm$ SD	الخطأ القياسي	p-value
التبادل الشاردي	7.82 $\pm$ 1.60	0.08	0.704
الفلورة المناعية	5.05 $\pm$ 0.43	0.06	

كان متوسط الخضاب الغلوكوزي أعلى قليلاً عند استخدام طريقة التبادل الشاردي مقارنة مع طريقة الفلورة المناعية دون وجود فرق إحصائي هام $p\text{-value}=0.704$



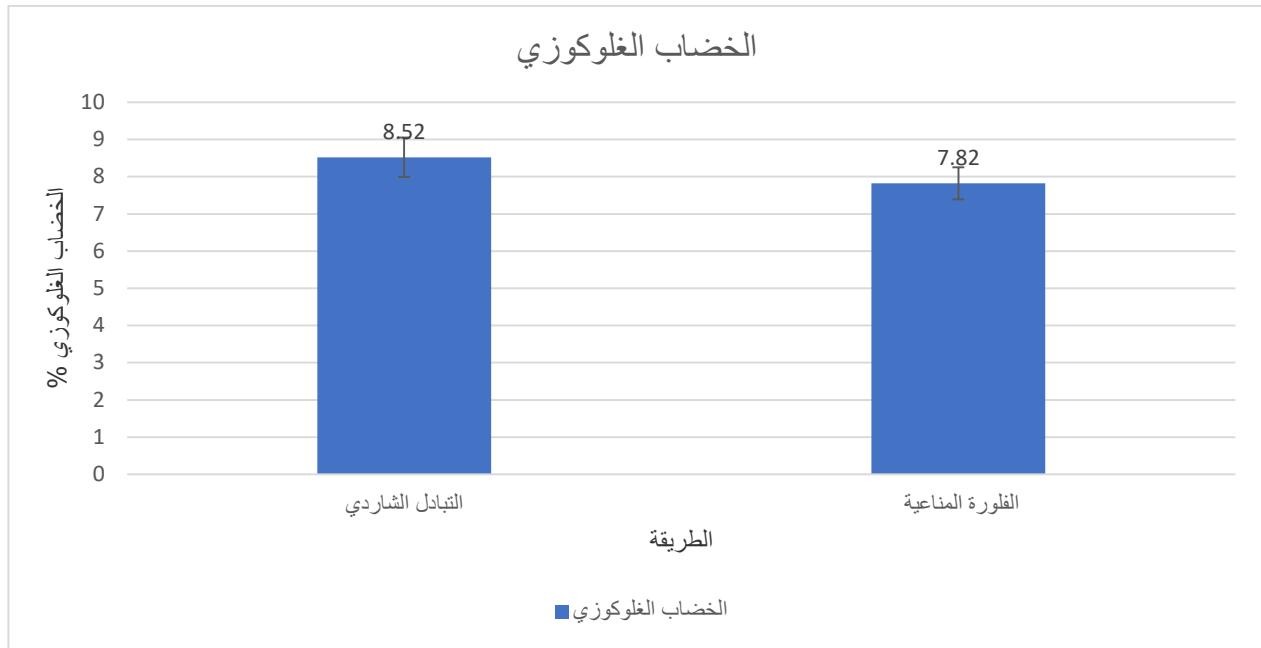
الشكل (4): مقارنة قيمة الخضاب الغلوكوزي بين طريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية لدى مجموعة الشاهد

6- مقايصة الخضاب الغلوكوزي باستخدام الطريقتين لدى مجموعة المرضى

الجدول(6): مقارنة قيمة الخضاب الغلوكوزي بين طريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية لدى مجموعة المرضى

الطريقة	Mean $\pm$ SD	الخطأ القياسي	p-value
التبادل الشاردي	8.52 $\pm$ 1.75	0.20	0.04
الفلورة المناعية	7.82 $\pm$ 1.60	0.18	

كان متوسط الخضاب الغلوكوزي أعلى قليلاً عند استخدام طريقة التبادل الشاردي مقارنة مع طريقة الفلورة المناعية لدى المرضى مع وجود فرق إحصائي هام حيث كانت قيمة $p\text{-value}=0.04$



الشكل (5): مقارنة قيمة الخصاب الغلوكوزي بين طريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية لدى مجموعة المرضى

7- العلاقة بين قيم الخصاب الغلوكوزي و قيم سكر الدم الصيامي

الجدول (7): دراسة العلاقة بين قيم الخصاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة

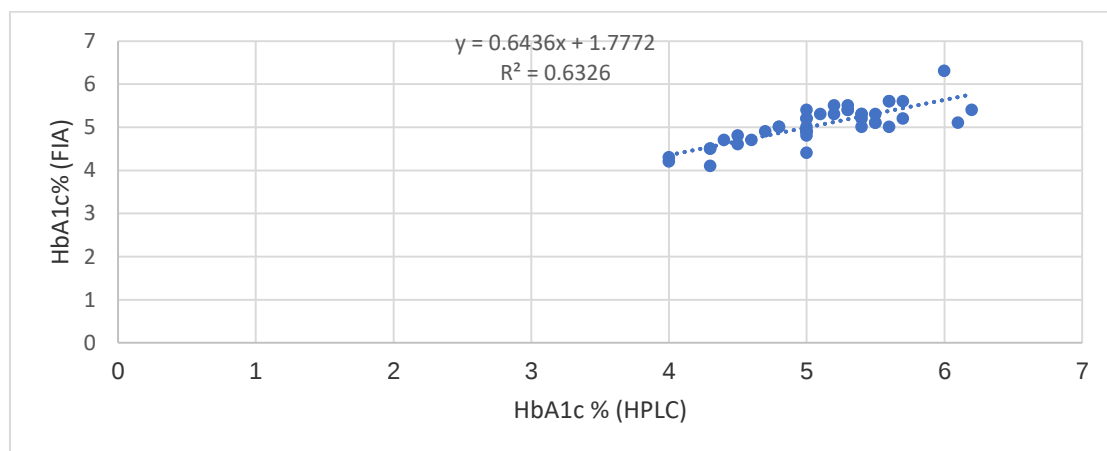
التبادل الشاردي والفلورة المناعية لدى مجتمع الدراسة وإرتباطها مع قيم سكر الدم الصيامي (FBG)

الطريقة	المتغير 1	المتغير 2	Pearson Correlation	P-value
التبادل الشاردي	(HPLC) HbA1c	(FIA) HbA1c	0.586	0.000
	(HPLC) HbA1c	FBG	0.898	0.000
	(FIA) HbA1c	FBG	0.753	0.000
الفلورة المناعية	(HPLC) HbA1c	(FIA) HbA1c	0.795	0.000
	(HPLC)HbA1c	FBG	0.164	0.299
	(FIA)HbA1c	FBG	0.138	0.382

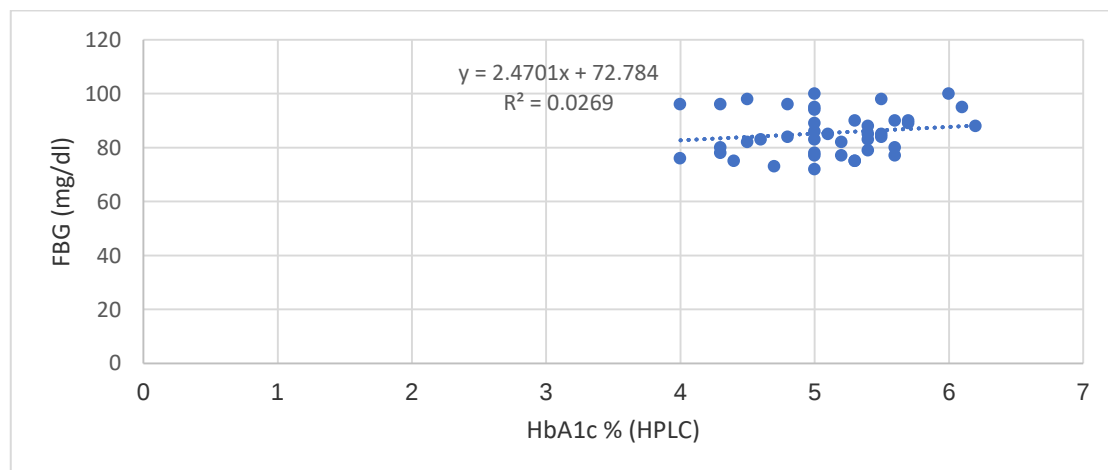
فيما يخص مجموعة المرضى:

- وجود علاقة ارتباط طردي جيدة بين قيم الخصاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية حيث بلغت قيمة $r=0.586$ وهي ذات دلالة إحصائية إذ كانت قيمة $p\text{-value}=0.000$
- وجود علاقة ارتباط طردي قوية جداً بين قيم الخصاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي وقيم FBG حيث بلغت قيمة $r=0.898$ وهي ذات دلالة إحصائية إذ كانت قيمة $p\text{-value}=0.000$

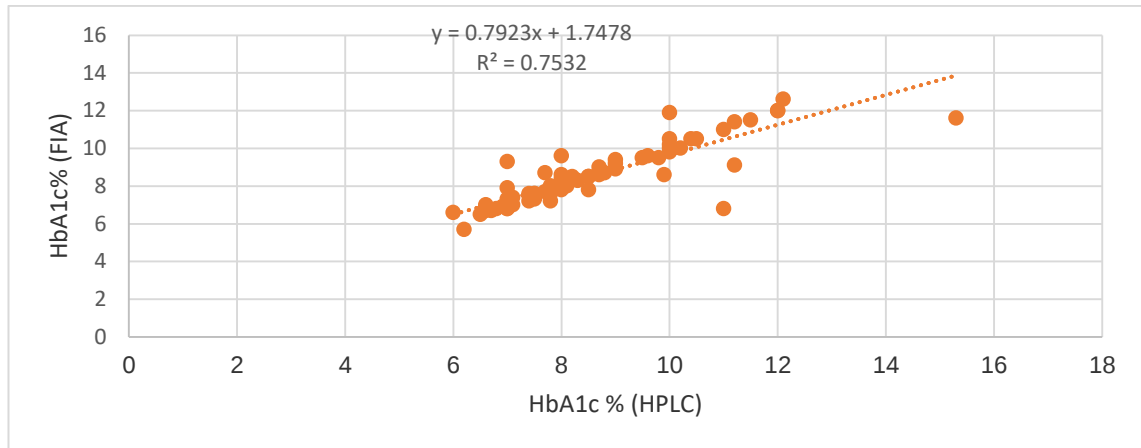
- وجود علاقة ارتباط طردية قوية بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة الفلورة المناعية وقيم FBG حيث بلغت قيمة $r=0.753$ وهي ذات دلالة إحصائية إذ كانت قيمة $p\text{-value}=0.000$ فيما يخص مجموعة الشاهد:
- وجود علاقة ارتباط طردية قوية بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية حيث بلغت قيمة $r=0.795$ وهي ذات دلالة إحصائية إذ كانت قيمة $p\text{-value}=0.000$
- وجود علاقة ارتباط طردية ضعيف بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي وقيم FBG حيث بلغت قيمة $r=0.164$ دون وجود دلالة إحصائية هامة إذ كانت قيمة $p\text{-value}=0.299$
- وجود علاقة ارتباط طردية ضعيف بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة الفلورة المناعية وقيم FBG حيث بلغت قيمة $r=0.138$ دون وجود دلالة إحصائية هامة إذ كانت قيمة $p\text{-value}=0.382$



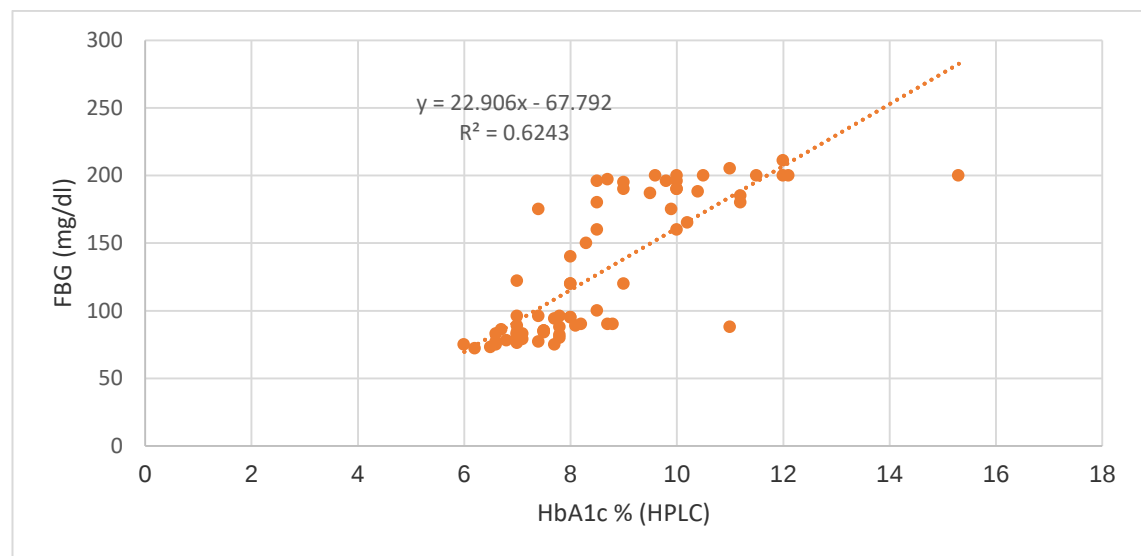
الشكل (6): منحني الانتشار للعلاقة بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية لدى مجموعة الشاهد



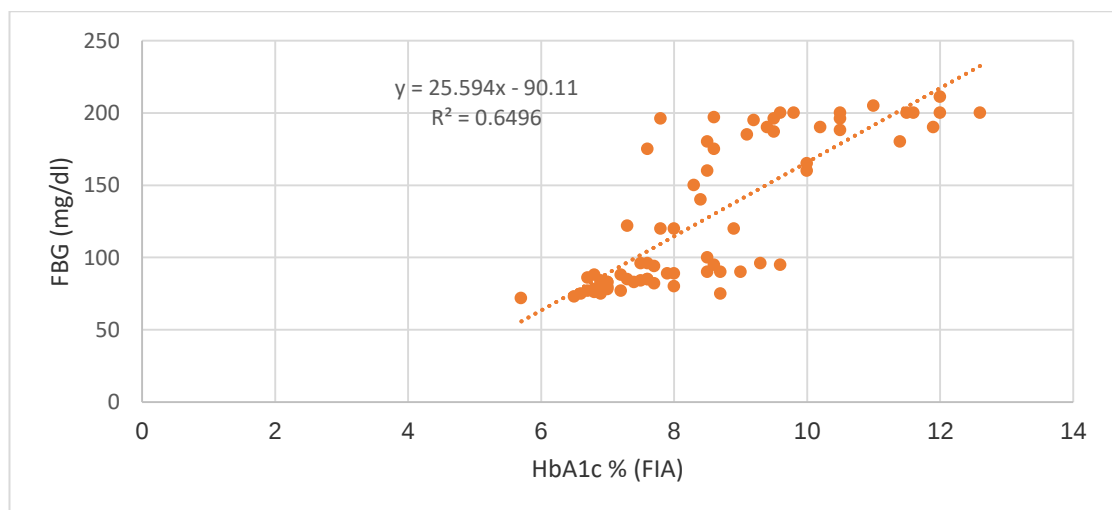
الشكل (7): منحني الانتشار للعلاقة بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي وقيم FBG لدى مجموعة الشاهد



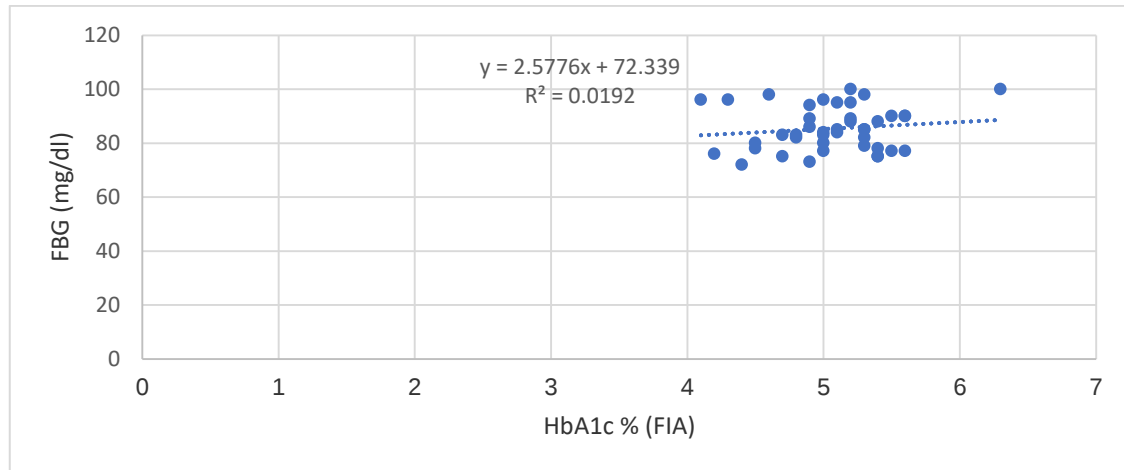
الشكل (8): منحني الانتشار للعلاقة بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية لدى مجموعة المرضى



الشكل (9): منحني الانتشار للعلاقة بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي و قيم FBG لدى مجموعة المرضى

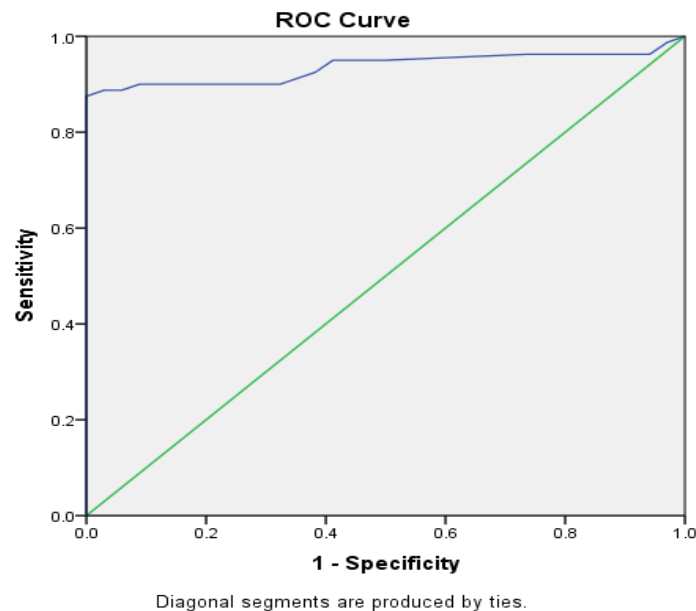


الشكل (10): منحني الانتشار للعلاقة بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة الفلورة المناعية وقيم FBG لدى مجموعة المرضى



الشكل (11): منحني الانتشار للعلاقة بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة الفلورة المناعية وقيم FBG لدى مجموعة الشاهد

8- حساسية ونوعية طريقة التبادل الشاردي على العمود



الشكل (12): منحني ROC لقيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بـ التبادل الشاردي من أجل تشخيص والتنبؤ بالإصابة بالداء السكري

كانت المساحة تحت سطح المنحني $AUC=0.93$ لمخطط ROC هامة إحصائياً $P\text{-value}=0.001$

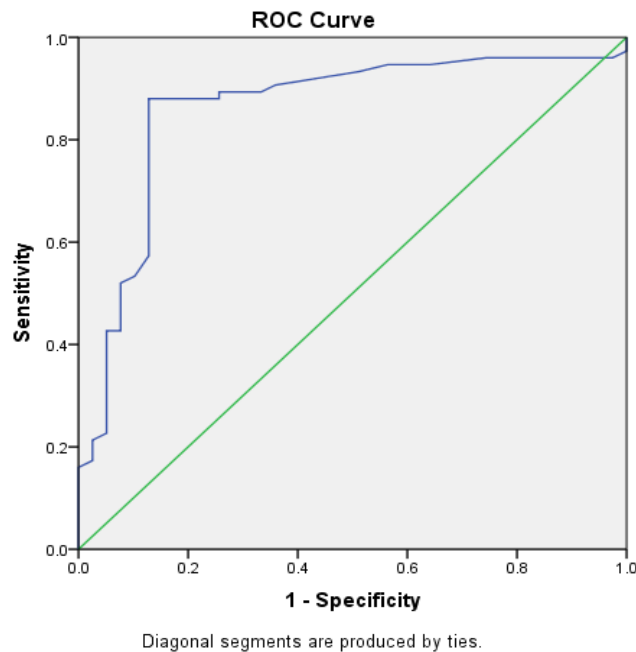
الجدول (8) حساسية ونوعية طريقة التبادل الشاردي في تشخيص أو تحديد خطورة الإصابة بالداء السكري :

النوعية %	الحساسية %	القيمة الحدية الموصى بها من ADA
% 100	% 82.1	% 6.5
% 65.7	% 90.1	% 5.7

الجدول (9) : حساسية ونوعية طريقة التبادل الشاردي من أجل بعض القيم الحدية

النوعية %	الحساسية %	القيم الحدية HbA1c %
60.8	94.7	5.5
63.9	90.5	5.6
65.71	90.1	5.7
69.8	89.6	5.8
70.00	88.4	5.9
75.6	88.2	6
80.63	87.6	6.1
85.98	86.3	6.2
89.97	84.6	6.3
93.9	82.5	6.4
100	82.1	6.5
100	78.9	6.6
100	75.6	6.7

9- حساسية ونوعية طريقة الفلورة المناعية



الشكل (13): منحنى ROC لقيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بـ الفلورة المناعية من أجل تشخيص والتنبؤ بالإصابة بالداء السكري

كانت المساحة تحت سطح المنحنى $AUC=0.86$ لمخطط ROC هامة إحصائياً $P\text{-value}=0.04$

الجدول (10): حساسية ونوعية طريقة الفلورة المناعية في تشخيص أو تحديد خطورة الإصابة بالداء السكري

القيمة الحدية الموصى بها من ADA	الحساسية %	النوعية %
6.5 %	69.5 %	85.5 %
5.7 %	89.4 %	72.6 %

الجدول (11) حساسية ونوعية طريقة الفلورة المناعية من أجل بعض القيم الحدية:

HbA1c % القيم الحدية	الحساسية %	النوعية %
5.4	92.4	60.5
5.5	91.6	60.9
5.6	90.6	70.6
5.7	89.4	72.6
5.8	89.1	75.9
5.9	88.3	76.3
6	85.3	78.9
6.1	83.4	80.9
6.2	80.6	84.9
6.3	75.9	85.5
6.4	70.6	85.5
6.5	69.5	85.5
6.6	65.3	85.8
6.7	63.5	85.9

المناقشة:

يقدم اختبار الخضاب الغلوكوزي تطوراً كبيراً في مجال رعاية مرضى الداء السكري، وأصبح قياسه جزءاً لا يتجزأ من ضبط هذا الداء. توجد علاقة بين ضبط سكر الدم وخفض اختطار مضاعفات الداء السكري، وأيضاً يمكن أن يستخدم لتشخيص الداء السكري [8] [9]. من أجل داء مثل السكري المنتشر على نطاق واسع في العالم، نحتاج لاختبار ذو نوعية عالية لتقليل الإيجابيات الكاذبة الكبيرة لإحداث الإنذار [10].

كان متوسط سكر الدم الصيامي أعلى لدى مجموعة المرضى (244,41 ملغ/دل) مما هو عليه لدى مجموعة الأصحاء (85,38 ملغ/دل) مع فرق إحصائي هام بين المجموعتين ($P\text{-value}=0.002$)، وعند مقارنة متوسط الخضاب الغلوكوزي المقاس بطريقة التبادل الشاردي بين مجموعة المرضى ومجموعة الشاهد الأصحاء، كان هناك فرقاً إحصائياً هاماً أيضاً في المتوسط بين المجموعتين إذ بلغت ($P\text{-value}=0.000$). كذلك الأمر عند استخدام طريقة الفلورة المناعية في القياس كان هناك فرقاً إحصائياً هاماً بين المجموعتين ($P\text{-value}=0.000$) يمكن تفسير النتيجة السابقة أن ارتفاع المستويات المصلية لسكر الدم الصيامي لفترات طويلة لدى مجموعة المرضى سيؤدي لزيادة فترة تماس الغلوكوز مع الخضاب في الدم ومنه زيادة تشكل الخضاب الغلوكوزي وارتفاع مستوياته المصلية أيضاً [5]. كان متوسط الخضاب الغلوكوزي المقاس لدى مجموعة المرضى باستخدام طريقة التبادل الشاردي ($8,52 \pm 1,75$ %) أعلى

من متوسط الخضاب الغلوكوزي المقاس باستخدام طريقة الفلورة المناعية ($1,60 \pm 7,82\%$) مع وجود فرق إحصائي هام ($P\text{-value}=0.04$)، مع الانتباه إلى أن كلا المتوسطين ضمن مرحلة السكري ($\leq 6,5\%$) تبعاً لتوصيات ADA. يمكن تفسير ذلك باختلاف حساسية ونوعية ومنه مضبوطة الطريقتين فيما بينهما نظراً لاختلاف مبدأ الكشف وطريقة التحليل بالإضافة إلى وجود العديد من العوامل التي تتداخل مع طريقة القياس (تغيرات في عملية غلوزة الخضاب Hemoglobin Glycosylation أو ارتفاع سكر الدم لفترة طويلة أو بسبب وجود شدة تأكسدية وتغير في بنية HbA1c ومنه عدم تعرف الضد على المستضد; HbA1c أو كفاءة ونوعية الأضداد المستعملة) أو بسبب بيئة العمل (تغيرات الحرارة أو درجة الحموضة) التي قد تؤدي لتمسخ البروتين (الخضاب) وعدم تعرف الضد عليه [11] بالمقابل، تعطي طريقة التبادل الشاردي مضبوطة أعلى من خلال قياسها للخضاب الغلوكوزي بشكل مباشر بعد فصله عن أنواع الخضاب الأخرى. فيما يتعلق بمعاملات الارتباط المدروسة، كان معامل ارتباط سكر الدم الصيامي أقوى مع قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي ($r=0.898$) مما هو عليه مع طريقة الفلورة المناعية ($r=0.753$). يمكن تفسير هذا الفرق بوجود عوامل لدى المريض (شدة تأكسدية) أو تلك المتعلقة بالطريقة التحليلية المستخدمة (اختلاف درجة الحرارة أو درجة الحموضة وتمسخ البروتين) قد أثرت على عملية بنية الخضاب (في مناطق تعرف الضد) ومنه عدم الكشف عن كامل الخضاب الغلوكوزي لدى المريض (انخفاض كاذب) على الرغم من ارتفاع المستويات المصلية لغلوكوز الدم. إضافة لما سبق، أظهر معامل ارتباط بيرسون بين قيم الخضاب الغلوكوزي المقاسة بطريقة التبادل الشاردي وطريقة الفلورة المناعية وجود علاقة ارتباط جيدة (متوسطة القوة) بين الطريقتين وهي هامة إحصائياً ($P\text{-value}= 0.000, r=0.586$).

توافقت هذه النتائج مع مجموعة من الدراسات العالمية

❖ حيث أظهرت دراسة الباحث Chido W Bvumbi وزملاءه في زمبابوي عام 2024 (بلغ عدد أفراد الدراسة 120) عند دراسة الارتباط بين مستويات الخضاب الغلوكوزي المقاس بطريقة التبادل الشاردي ومستويات الغلوكوز الصيامي لدى مجموعة المرضى وجود علاقة ارتباط طردية قوية جداً ويعتد بها إحصائياً ($p<0.001, r=0.84$) [12].

❖ كما أظهرت دراسة الباحث Dona Acharjya وزملاءه في البنغال عام 2023 (بلغ عدد أفراد الدراسة 120) حيث كان هناك انخفاض بالمتوسط الحسابي ل HbA1c المقاس بطريقة الفلورة المناعية ($1,18 \pm 7,17\%$) بالمقارنة مع ال HPLC ($1,81 \pm 8,78\%$) وكان ذلك هاماً إحصائياً ($P<0.001$)، وكان هناك ارتباط طردي متوسط الشدة بين الطريقتين مع فرق هام إحصائياً ($p<0.001, r=0.719$) [13].

❖ وكما أظهرت دراسة الباحث M.Guadalup vargas وزملاءه في الاكوادور عام 2020 (عدد أفراد الدراسة 114 فرداً) انخفاض المتوسط الحسابي للخضاب الغلوكوزي المقاس بطريقة الفلورة المناعية ($1,9 \pm 5,8\%$) بالمقارنة مع التبادل الشاردي ($1,7 \pm 6,3\%$) وكانت ($P<0.001$)، وكان هناك ارتباط طردي متوسط الشدة بين الطريقتين يعتد به إحصائياً ($r=0.368, P\leq 0.05$) الأمر الممكن تفسيره باختلاف حساسية ونوعية الطريقتين في القياس. ووفقاً لدراساتهم أعطت طريقة الفلورة المناعية نتائج إيجابية كاذبة عند عينات لأفراد كان لديهم ($HbA1c>6.5\%$ مقاسة بواسطة HPLC) وكان الفرق هاماً إحصائياً ($P=0.0039$)، اختلفت مع نتيجة دراستنا التي أظهرت أن متوسط الخضاب الغلوكوزي لدى مجموعة الشاهد المقاس بطريقة التبادل الشاردي ($1,53 \pm 5,1\%$) أعلى قليلاً أيضاً من متوسط الخضاب الغلوكوزي المقاس بطريقة الفلورة المناعية

(5,05±0,43%) دون وجود فرق إحصائي هام ($P < 0.005$) ووجدت ارتباط جيد جدا بين الطريقتين مع فارق يعتد به إحصائياً ($r = 0.965$, $P < 0.05$) [14].

❖ أظهرت دراسة الباحث Mohammad Taha Jalali وزملاؤه في إيران عام 2016 (عدد أفراد الدراسة 55) انخفاض المتوسط الحسابي لقيم HbA1c باستخدام طريقة الفلورة المناعية ($7,5 \pm 2,4$ %) وكانت طريقة ال HPLC ($8,3 \pm 2,6$ %) مع وجود فرق إحصائي هام ($P < 0.005$) ووجدت ارتباطاً جيداً جداً بين الطريقتين مع فارق يعتد به إحصائياً ($r = 0.965$, $P < 0.05$) [15].

❖ دراسة للباحثة Ranim Laqtineh أجريت في سوريا عام 2015 (عدد أفراد الدراسة 175 فرد) كان هنالك ارتباطاً قوياً بين قيم سكر الدم الصيامي والخضاب الغلوكوزي المقاس بواسطة HPLC عند مجموعة المرضى ويعتد به إحصائياً ($r = 0.782$, $p < 0.00001$) [16].

فيما يخص طريقة التبادل الشاردي، كانت المساحة تحت سطح المنحني $AUC = 93\%$ مع دلالة إحصائية هامة ($P = 0.001$) ومنه فإن هذه الطريقة تعد ذات كفاءة عالية عند استخدامها للغاية المستخدمة من أجلها (حيث أن AUC أكبر من 90%).

بالانتقال إلى طريقة الفلورة المناعية المستخدمة، كانت المساحة تحت سطح المنحني $AUC = 86\%$ مع دلالة إحصائية هامة ($P\text{-value} = 0.04$)، ومنه فإن الطريقة التحليلية المستخدمة هي طريقة جيدة للقياس (AUC أكبر أو يساوي 70% وأقل من 90%).

عند مقارنة AUC بين الطريقتين، فإن مضبوطة Accuracy طريقة التبادل الشاردي في تشخيص الداء السكري أو الكشف عن مرحلة ما قبل السكري (القدرة على التمييز بين المصاب بالداء السكري أو مرحلة ما قبل السكري عن غير المصاب مع حد أدنى من السلبية الكاذبة أو الإيجابية الكاذبة) أفضل من طريقة الفلورة المناعية التي أظهرت مستوى معتدل من الأداء في دراستنا. بالنسبة لطريقة التبادل الشاردي، كانت نوعية القيمة الحدية 6,5% في تشخيص الداء السكري 100% وحساسيتها 82,1%، أما فيما يخص مرحلة ما قبل السكري، فتبين أن القيمة الحدية 5,5% هي القيمة المثلى بعد أن أظهر المنحني المدروس أن حساسيتها للكشف عن مرحلة ما قبل السكري هي 94,7% مع نوعية 60,8% بينما كانت حساسية القيمة الحدية المرجعية الموصى بها من ADA 5,7% هي 90,1% مع نوعية 65,71%. أما بالنسبة لطريقة الفلورة المناعية، كانت نوعية القيمة الحدية 6,3% في تشخيص الداء السكري 85,5% وحساسيتها 75,9% أما فيما يخص مرحلة ما قبل السكري، فتبين أن القيمة الحدية 5,4% هي القيمة المثلى بعد أن أظهر المنحني المدروس أن حساسيتها للكشف عن مرحلة ما قبل السكري هي 92,4% مع نوعية 60,5% بينما كانت حساسية القيمة 5,7% هي 89,4% فقط مع نوعية 72,6%. يمكن تفسير هذه الاختلافات مع القيم المرجعية التي أوصت بها ADA فيما يخص التشخيص أو الكشف عن مرحلة ما قبل السكري بوجود اختلافات في مجتمع الدراسة.

كما أن القيمة الحدية التي أوصت بها ADA قد وضعت لتشمل أكبر عدد من المرضى عالمياً بينما القيم التي توصلنا إليها هي قيم خاصة بمجتمعنا المحلي. إضافة لما سبق، يمكن أن يكون لاختلاف نمط الحياة والغذاء والنشاط الفيزيائي تأثير في ذلك أيضاً. من جهة أخرى، تفسر الاختلافات في القيم الحدية بين الطريقتين المدروستين فيما بينهما على الرغم من أن العينة هي ذاتها باختلاف مضبوطة الطريقتين كما أشرنا سابقاً ووجود عوامل متعلقة بطريقة التحليل أو تحضير العينة وحفظها قد تؤثر على النتائج.

تعارضت هذه النتيجة مع دراسة الباحث Chido W Bvumbi وزملاءه في زمبابوي عام 2024 (120 فرد) التي وجدت أن القيمة المثلى لتشخيص الداء السكري عند استخدام طريقة التبادل الشاردي هي 6,1% بعد أن أظهرت نوعية أعلى في التشخيص 93,2% مع حساسية 87,1% مقارنةً مع نوعية وحساسية القيمة الحدية 6,5% الموصى بها من ADA [12]. يمكن تفسير الاختلاف مع دراستنا باختلاف خصائص مجتمع الدراسة من حيث العرق (الاثنية) بين الدراستين حيث شملت دراسة الباحث Chido W Bvumbi المشاركين من افريقيا التي أشارت العديد من الدراسات السابقة إلى ارتفاع مستويات الخضاب الغلوكوزي لديهم بالمقارنة مع المجتمعات الأخرى [17].

فيما يخص مرحلة ما قبل السكري، تتفق نتيجة دراستنا هذه مع دراسة الباحث Procolo Di Bonito وزملاءه في إيطاليا عام 2022 (1549 فرد)، بعد أن أظهرت النتائج أن القيمة الحدية 5,5% لها حساسية أعلى في التحري (الطريقة المستخدمة هي التبادل الشاردي) [18]. كما أنها تتوافق هذه النتيجة مع دراسة الباحثة Ranim Laqtineh في سوريا عام 2015 (175 فرد) التي وجدت أن القيمة الحدية المثلى لتشخيص السكري عند استخدام طريقة التبادل الشاردي هي 6,5% (حساسية: 75% & نوعية: 100%) [16].

References:

- [1] American Diabetes Association; 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. Diabetes Care 1 January 2021; 44 (Supplement_1): S15–S33. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>
- [2] Association, A.D., Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care, 2010. 33(Supplement_1): p.S62S69
- [3] Acharya A Seetharama, Rajendra Prasad Roy and Bhuvaneshwari Dorai. "Aldimine to ketoamine isomerization (Amadori rearrangement) potential at the individual nonenzymic glycation sites of hemoglobin A: preferential inhibition of glycation by nucleophiles at sites of low isomerization potential". Journal of protein chemistry 10 (1991): 345-358
- [4] American Diabetes Association, <https://diabetes.org/about-diabetes/a1c>
- [5] HbA1c and Estimated Average Glucose (eAG) <https://ngsp.org/A1ceAG.asp#>
- [6] International Diabetes Federation, 2021 <https://diabetesatlas.org/data/en/country/193/sy.html>
- [7] Nitin, Sinha. "HbA1c and factors other than diabetes mellitus affecting it." Singapore Med J 51.8(2010); 616-622
- [8] Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson J, Miedema K, Barr J, Goodall I et al. IFCC Reference System for Measurement of Hemoglobin A1c in Human Blood and the National Standardization Schemes in the United States, Japan, and Sweden: A Method – Comparison Study. Clin Chem. 2004; 50(1): 166-174
- [9] Steffes M, Cleary P, Goldstein D, Little R, Wiedmeyer H, Rohlfing C et al. Hemoglobin A1c Measurements over Nearly Two Decades: Sustaining Comparable Values throughout the Diabetes Control and Complications Trial and the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study. Clin Chem. 2005; 50 (4): 753-758
- [10] Saudek CD, Herman WH, Sacks DB, Bergenstal RM, Edelman D, Davidson MB 2008 A new look at screening and diagnosing diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 93:2447–2453.

- [11] Z. Chen, L. Shao, M. Jiang, X. Ba, B. Ma, and T. Zhou, "Interpretation of HbA1c lies at the intersection of analytical methodology, clinical biochemistry and hematology (Review)," *Exp Ther Med*, vol. 24, no. 6, p. 707, Oct. 2022, doi: 10.3892/etm.2022.11643.
- [12] C. W. Bvumbi et al., "Diagnostic cut-off value of haemoglobin A1c for diabetes mellitus in Harare, Zimbabwe," *Afr J Lab Med*, vol. 13, no. 1, Apr. 2024, doi: 10.4102/ajlm.v13i1.2373
- [13] Dona Acharjya., Comparative Evaluation Of 4 Different Hba1c Analytical Assays With The Gold Standard High Performance Liquid Chromatography In Type Diabetics Of Sub Himalayan Population, Volume - 12 | issue - 06 | June - 2023 | print issn no. 2277 - 8179 | doi: 10.36106/ijsr
- [14] M. Guadalupe Vargas et al., "Assessment of two glyated hemoglobin immunoassays," *Endocrinol Diabetes Nutr*, vol. 67, no. 5, pp. 297–303, May 2020, doi: 10.1016/j.endinu.2019.09.011
- [15] Mohammad Taha Jalali et al., "Evaluation of Accuracy, Precision and Agreement of Five Hba1c Measurement Methods with HPLC Reference Method" April 2016 *Medical Laboratory Journal* 10(2):58-64 ,doi I:10.18869/acadpub.mlj.10.2.58
- [16] Laktineh R; Chahin E. and Haddad S, Comparison Study of Two Assay Methods of Glycated Hemoglobin ,7, Issues 9-10 – 2016
- [17] M. J. L. Hare et al., "Glucose-Independent Ethnic Differences in HbA1c in People Without Known Diabetes," *Diabetes Care*, vol. 36, no. 6, pp. 1534–1540, Jun. 2013, doi: 10.2337/dc12-1210
- [18] P. Di Bonito et al., "Which Is the Most Appropriate Cut-Off of HbA1c for Prediabetes Screening in Caucasian Youths with Overweight or Obesity?," *Int J Environ Res Public Health*, vol. 20, no. 2, p. 928, Jan. 2023, doi: 10.3390/ijerph20020928.

