مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم الطبية المجلد (26) العدد (1) 2004
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research- Medical Science Series Vol (26) No (1) 2004

دراسة مقارنة بين طريقة الامتزاز على العمود الكروماتوغرافي (الاستشراب) وطريقة الرحلان الكهربائي على غراء الأغاروز لتعيين قيمة الخضاب A_2 (HbA_2)

الدكتور بسام عابدين*
الدكتور ميخائيل جرجس**
حصه بدر***

(قبل للنشر في 2004/4/18)

□ الملخّص □

تمت الدراسة على 73 حالة من فئات عمرية مختلفة ودون تحديد للجنس في مشفى الأسد الجامعي باللاذقية بين عامي 2002–2003 منها 26 حالة β تلاسيميا صغرى .

أجري لجميع العينات رحلان كهربائي على غراء الأغاروز بتيار شدته 100-120AM و PH=8.6، وكذلك استشراب على العمود لتعيين قيمة HbA_2، باستخدام طاقم عمل جاهز من شركة ®Biosystem.

خلاصة النتائج:

1- بالنسبة للحالات الطبيعية:

- كان متوسط قيم A_2 بطريقة الرحلان الكهربائي يساوي 3.172%، والانحراف المعياري لها 0.369، وبذلك يكون مجال الثقة لهذا المتوسط: $P[3.067 \pounds \bar{x} \pounds 3.278] = 0.95$
- كان متوسط قيم A_2 بطريقة الاستشراب على العمود 3.248%، والانحراف المعياري لها 0.598، وبذلك يكون مجال الثقة لهذا المتوسط: $P[3.077 \pounds \bar{x} \pounds 3.419] = 0.95$

2- بالنسبة لحالات التلاسيميا بيتا الصغرى :

- كان متوسط قيم A_2 بطريقة الرحلان الكهربائي 5.531%، والانحراف المعياري لها 0.779، وبذلك يكون مجال الثقة لهذا المتوسط: $P[5.22 \pounds \bar{x} \pounds 5.84] = 0.95$
- كان متوسط قيم A_2 بطريقة الاستشراب على العمود 5.354%، والانحراف المعياري لها 0.796، وبذلك يكون مجال الثقة لهذا المتوسط: $P[5.03 \pounds \bar{x} \pounds 5.67] = 0.95$

3- لم نجد أي فرق جوهري بين طريقتي القياس ، الرحلان الكهربائي والاستشراب على العمود الكروماتوغرافي عند دراسة كلا المجموعتين السابقتين .

* أستاذ في قسم الطب المخبري- كلية الطب- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.
** أستاذ مساعد في قسم الأمراض الباطنة- كلية الطب- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.
*** طالبة دراسات عليا في قسم الطب المخبري- كلية الطب- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.

مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم الطبية المجلد (26) العدد (1) 2004
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research- Medical Science Series Vol (26) No (1) 2004

A Comparative Study between Microcolumn Chromatography Way and the Electrophoresis on Gel Agarose to Identify the Quantity of Haemoglobin A_2 (Hba_2)

Dr. Bassam Abdeen [*]
Dr. Mikhael Jorgous[**]
Hassa bader[***]

(Accepted 18/4/2004)

□ ABSTRACT □

This study was carried out on 73 states of different age groups, without identifying the sex, in Al-Assad Hospital in Lattakia between 2002–2003. 26 of these were β- thalassemia trait.

All these samples were subjected to electrophoresis on gel agarose with an electric current whose intensity was 100- 120 Am, and Ph = 8.6. and a microculomn chromatography to identify the value of HbA_2, by using prepared stuff from Biosystem® Company.

Summary of results:

1- Regarding normal cases :

-The average values of A_2 in the way of electrophoresis was 3.172%, its standard deviation was 0.369, so the confidence rang for this average is:

$P[3.067 \leq X \leq 3.278]= 0.95$

-The average values of A_2 in of microcolumn chromatography was 3.248%, its standard deviation was 0.598, so the confidence rang for this average is:

$P[3.077 \leq X \leq 3.419]= 0.95$

2- Regarding β- thalassemia trait cases:

-The average values of A2 in the way of electrophoresis was 5.531%, its standard deviation was 0.779, so the confidence rang for this average is:

$P[5.22 \leq X \leq 5.84]= 0.95$

-The average values of A2 in microcolumn chromatography was 5.354%, its standard deviation was 0.796, so the confidence rang for this average is:

$P[5.03\leq X \leq 5.67]= 0.95$

3-We find no significant difference between the two ways of measurement electrophoresis and microcolumn chromatography in the study of the two groups.

[*] **Professor In Laboratory Medicine – Faculty Of Medicine, Tishreen University, Lattakia, Syria**
[**] **Associate Professor In Internal Diseases Department Faculty Of Medicine, Tishreen University, Lattakia, Syria**
[***] **High Studies Student In Laboratory Medicine – Faculty Of Medicine, Tishreen University, Lattakia, Syria**

هدف البحث وأهميته:

دراسة مقارنة بين طريقة الامتزاز على العمود الكرماتوغرافي (الاستشراب) وطريقة الرحلان الكهربائي على غراء الأغارو لتعيين نسبة الخضاب A_2 المتواجد بنسبة ضئيلة جداً ولكون قياسه بشكل دقيق أهمية كبرى في تشخيص التلاسيميا بيتا الصغرى .

لمحة مختصرة عن البحث:

تنحصر القيم المرجعية للخضاب A_2 في طريقة الاستشراب على العمود لدى البالغين الأسوياء ما بين 1.5–3% مع وسطي 2.2%، وفي حالة β تلاسيميا الصغرى تتراوح قيمة HbA_2 من 3.5–8% وتبدي نسبة ضئيلة جداً من العينات قيماً لـ HbA_2 في المجال الوسطي 3–3.5%، أي أن القيم الحدية قد تغير التشخيص السريري ولذا يجب أن يقاس HbA_2 بدقة جيدة لأن تشخيص β تلاسيميا الصغرى قد يعتمد أحياناً على قيمة HbA_2 التي تكون أعلى من القيم المرجعيةالسوية بحوالي 1–2% فقط .[1،4]

إن وجود HbA_2 بكمية قليلة عند الإنسان الطبيعي تجعل من الأهمية بمكان تقدير كميتها بصورة دقيقة جداً وخاصة عند وجود مشعرات دموية توجه لفقر دم يتميز بكريات صغيرة الحجم ناقصة الصباغ.

إذاً الصعوبة الأساسية في تشخيص β تلاسيميا الصغرى في تحديد نسبة HbA_2. مما يستدعي تطبيق تقنية ثانية إضافة للرحلان لتحديد هذه النسبة بشكل دقيق وهي تقنية الامتزاز على العمود حسب دراستنا.

لمحة عن الخضاب A_2:

يعتبر الهيموغلوبين المكون الرئيسي للكرية الحمراء 80% ووزنه الجزيئي 84500 دالتون، يتألف من أربع مجموعات من الهيم تحوي كل منها ذرة حديد وحلقة رباعية البيرول، ومن أربع سلاسل من الغلوبين يتشابه كل زوج منها.

بنية الغلوبين:

تحوي جميع الغلوبينات على سلسلتي ألفا مرتبطة بـ:

- سلسلتي بيتا لتعطي الهيموغلوبين الكهلي (A).
- سلسلتي غاما لتعطي الهيموغلوبين الجنيني (F).
- سلسلتي دلتا لتعطي الهيموغلوبين (A_2).

الهيموغلوبينات السوية:

يمتلك الجنين على هيموغلوبينات خاصة (Gower,Portland) ولكن عند الولادة تشهد 80% من HbF، 20% من HbA ويكون HbA_2 غائباً. تبلغ نسب الهيموغلوبين مستواها الثابت اعتباراً من السنة الأولى من العمر لتغدو HbA 97%، HbA_2 2–3%، HbF أقل من 1%.[2،5]

طرق دراسة الخضابات:

1- الرحلان الكهربائي على غراء الأغاروز:

الرحلان الكهربائي: هو مجموعة من الطرق المخبرية التي تعمل على فصل وتحديد مكونات سائل ذو PH محدد بدقة وخاضع لحقل كهربائي مستمر.

يستعمل الرحلان الكهربائي من أجل دراسة بروتينات الدم والخضاب وبدرجة أقل الإيزو أنزيمات وبدرجة أقل البروتينات البولية أو العائدة للسائل الدماغي الشوكي.

تتدخل عدة عوامل في الرحلان الكهربائي للجزيئات المشحونة: الشحنة الكهربائية للجزيئة وهذه الشحنة تتوقف إلى حد كبير على طبيعة وبنية البروتين ودرجة تأين المجموعات الكربوكسيلية والأمينية إضافة إلى نوعية الادمصاص الذي يتم مع الحامل الصلب، الوقاء (درجة PH والقوة الشاردية)، درجة الحرارة.

تستخدم طرق الرحلان دارئة باربيتال و8.6 = PH، أما الحقل الكهربائي المستخدم فهو (100-120AM) ترحل الخضابات عموماً على حامل مسامي صلب هو أسيتات السللوز أو الأغاروز مغمور بوقاء ذو PH محدد تماماً ويطبق تيار كهربائي مستمر بزمن محدد تماماً وبدرجة فولتاج ثابتة. ترحل الخضابات حسب شحنتها باتجاه المصعد لتستقر في مناطق محددة تماماً يسهل بعد نهاية الرحلان كشفها ومعرفة كميتها.[3]

2- الاستشراب على العمود (الكروماتوغرافيا):

وهي تقنية تعتمد على فصل مكونات مزيج باستخدام طورين غير مزوجين:

- حلالة المحلول: المحلول المراد تفريقه والذي يحوي العناصر الذائبة به.
- الطور الثابت: مادة ما توضع ضمن عمود من الزجاج وتوضع بطريقة تجعل هذا الطور الثابت يتوضع بشكل طبقات دقيقة جداً.

تُمرر العينة المطلوب تحليلها مع الطور المتحرك (الحلالة) فوق العمود فتترك هذه العينة مكوناتها وبشكل تدريجي مع تقدم العينة عبر العمود باتجاه الأسفل لترتبط مع الطور الثابت برباط تختلف شدته من مادة لأخرى. في مرحلة ثانية يُمرر ما نسميه محلول الاصطفاء فوق العمود فتتحرر المكونات المرتبطة مع الطور الثابت وتُستقبل نتائج الاصطفاء ضمن أنبوب. تقاس الكثافة الضوئية للأنبوب وتقارن الشدة الضوئية لمحلول يعادل 100% من الخضاب A_2 وتحسب النسبة بقاعدة رياضية خاصة.[4 ، 6]

3- طرق أخرى تعتمد على تقنية HPLC :

تعتمد التقنية على مبدأ التداخل بين مركبات العينة (الطور المتحرك) والطور السائل الذي يغطى به جدار العمود الصلب المستخدم، ويسمح الفصل على عمود HPLC بتمييز وتحديد كمية مكونات العينة بتقنيات كشف مناسبة. تتميز هذه التقنية بحساسية كبيرة ، قدرة عالية على العزل والوقت القصير المستهلك في التحليل .[7]

خطة العمل:

تمت دراسة 73 حالة منها 26 β- تلاسيميا صغرى. وتم تطبيق_تعداد عام وصيغة يتضمن جميع مشعرات الكريات الحمر (red cell indices (RBC ,Hb, Ht, MCV ,MCH, MCHC, RDW، فيلم دم، مشعر Mentzer، ورحلان كهربائي واستشراب_على العمود. [8 ، 10]

اعتمدنا في دراستنا في تشخيص حالات التلاسيميا بيتا الصغرى إضافةً للرحلان والاستشراب على العمود الكروماتوغرافي على دراسة تعداد دم آلي يبين مشعرات الكريات الحمراء

وكذلك تحقيق مشعر mentzer index للتفريق بين التلاسيميا بيتا الصغرى، فقر الدم بعوز الحديد. بالإضافة لدراسة فلم الدم.

صيغ من أجل التفريق بين التلاسيميا بيتا الصغرى وفقر الدم بعوز الحديد [9 ، 11]

Mentzer index MCV/RBC	تلاسيما صغرى < 13	نقص الحديد > 13
England and fraser MCV- RBC-(5´ Hb)- 8.4	Negative values	Positive values
Shine and lal (MCV)2´ MCH	<1530	>1530

النتائج العملية:

جدول (1) يبين حالات التلاسيميا بيتا الصغرى في هذه الدراسة وتحقيق المشعر Mentzer index

	قيمة A_2 بطريقة الرحلان	قيمة A_2 بطريقة الاستشراب	MCV	RBC	MCV/RBC
1	%5.8	%6.27	53	5.63	9.4
2	%5.7	%6	68.9	5.67	12.1
3	%6.7	%6.17	63.6	5.32	11.9
4	%5.4	%5.41	59.6	5.94	10
5	%5.3	%4.90	62.1	5.48	11.3
6	%4.3	%4.41	62.9	5.4	11.6
7	%4.7	%4.41	74.7	4.4	16.9
8	%5.4	%4.96	64.7	3.79	17
9	%6.6	%5.92	60.6	5.49	11
10	%4.2	%3.84	60.2	5.07	11.8
11	%3.5	%4.4	68.4	4.39	15.5
12	%5.8	%4.92	61.7	6.61	9.3
13	%5.4	%5	62.1	5.48	11.3
14	%6.2	%5.98	60.6	5.49	11
15	%5.8	%6.5	68.9	5.67	12.1
16	%6	%5.81	67.1	5.02	13.3
17	%6.1	%5.36	69.9	5.34	13
18	%5.8	%4.95	71.3	5.13	13.8
19	%6.8	%7.22	67.3	5.20	12.9
20	%5.5	%4.95	70.8	6.14	11.5
21	%4.9	%4.16	72.7	4.72	15.4
22	%5.5	%5.67	65.4	5.42	12

23	%5.2	%5.24	65.2	5.13	11.8
24	%6.5	%6.12	66	5.12	12.8
25	%5.4	%5.51	65	5.3	12.2
26	%5.3	%5.12	64	5.12	12.5

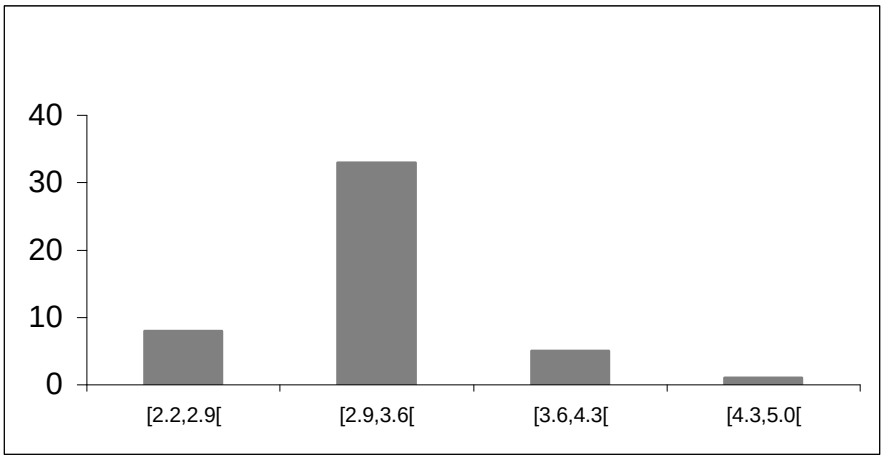
جدول (2) يبين الحالات الطبيعية

	قيمة A_2 بطريقة الرحلان	قيمة A_2 بطريقة الاستشراب
1	%2.6	% 2.2
2	%3.6	%4
3	%3.1	%2.92
4	%3.3	%3.54
5	%3.9	%4.53
6	%3.1	%3.81
7	%3	%3.02
8	%3.8	%4.94
9	%2.9	%3.25
10	%3.7	%4.40
11	%3	%2.80
12	%2.9	%2.83
13	%2.7	%2.59
14	%2.6	%2.52
15	%4.5	%3.12
16	%3.3	%3.30
17	%3.1	%2.44
18	%2.8	%3.17
19	%2.7	%3.18
20	%3	%2.64
21	%3.5	%4.21
22	%3.2	%3.12
23	%2.7	%3.27
24	%3.5	%3.57
25	%3.1	%3.33

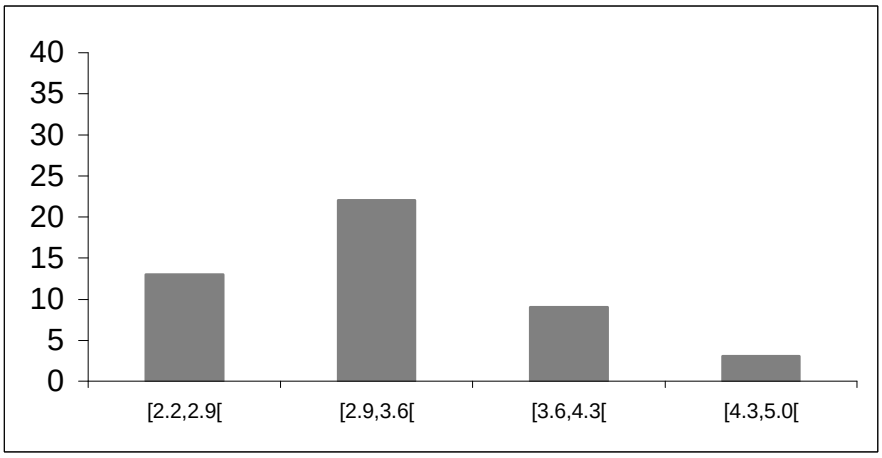
26	%3.6	%3.12
27	%3	%2.63
28	%2.9	%3.46
29	%3.2	%3.48
30	%3.3	%2.70
31	%3.2	%3.57
32	%2.9	%3.64
33	%2.9	%2.08
34	%3.2	%2.65
35	%3.2	%2.80
36	%2.7	%2.71
37	%3.1	%3.5
38	%3	%3.12
39	%3.1	%3.84
40	%3.2	%3.12
41	%3.5	%2.77
42	%3.5	%3.88
43	%3.1	%3.35
44	%3.1	%3.57
45	%3.3	%3.75
46	%3.1	%3.12
47	%2.8	%2.9

الإحصاءات الوصفية لقيم A_2 للحالات الطبيعية

المؤشرات	طريقة الرحلان الكهربائي	طريقة الاستشراب على العمود
المتوسط الحسابي	% 3.172	%3.248
الانحراف المعياري	0.369	0.598
الحد الأدنى لمجال الثقة للمتوسط باحتمال 95%	3.067	3.077
الحد الأعلى لمجال الثقة للمتوسط باحتمال 95%	3.278	3.419



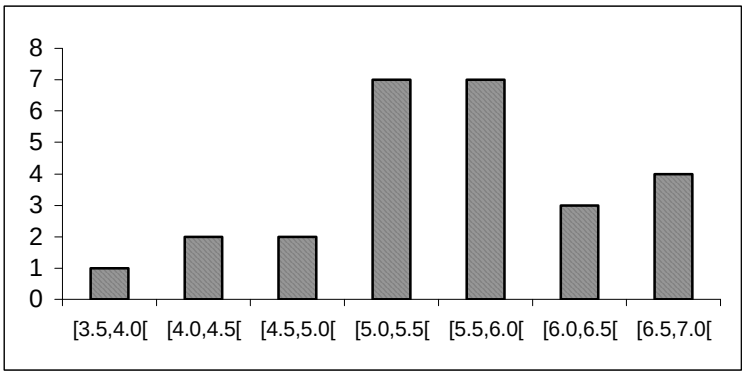
الشكل رقم (1): المدرج التكراري للحالات الطبيعية بطريقة الرحلان الكهربائي



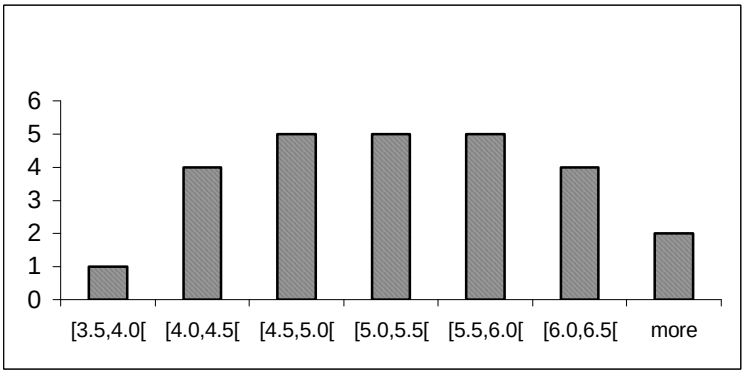
الشكل رقم (2): المدرج التكراري للحالات الطبيعية بطريقة الاستشراب على العمود

الإحصاءات الوصفية لقيم A_2 لحالات التلاسيميا بيتا الصغرى

المؤشرات	الرحلان الكهربائي	الاستشراب على العمود
المتوسط الحسابي	%5.531	%5.354
الانحراف المعياري	0.779	0.796
الحد الأدنى لمجال الثقة للمتوسط باحتمال 95%	5.22	5.03
الحد الأعلى لمجال الثقة للمتوسط باحتمال 95%	5.84	5.67
أصغر نسبة لحالة تلاسيما بيتا صغرى في الدراسة	%3.5	%3.84



الشكل رقم (3): المدرج التكراري لقيم A_2 في حالات التلاسيميا بيتا الصغرى بطريقة الرحلان الكهربائي



الشكل رقم (4): المدرج التكراري لقيم A_2 في حالات التلاسيميا بيتا الصغرى بطريقة الاستشراب على العمود

ـ بالنسبة لدراسة الفرق بين متوسط A2 للحالات الطبيعية كانت قيمة مؤشر الاختبار الفعلية(1.0546) أصغر من القيمة النظرية (2.013) لذلك نقبل الفرضية الابتدائية القائلة بعدم وجود فرق جوهري بين الطريقتين وذلك عند مستوى دلاله قدره P =0.05.

. بالنسبة لدراسة الفرق بين متوسط A_2 في مجتمع الحالات المرضية (حالات التلاسيميا بيتا الصغرى) لكل من الطريقتين من أجل مستوى دلالة قدرة P =0.05: نجد أن قيمة مؤشر الاختبار الفعلية (1.897) أصغر من القيمة النظرية (2.06) لذلك نقبل بالفرضية الابتدائية (فرضية العدم) القائلة بعدم وجود فرق معنوي بين متوسط A_2 في الحالات المرضية لكل من الطريقين.

***دراسة العلاقة الارتباطية بين MCV ، RBC وقيم HbA2 بطريقتي الاستشراب على العمود ، الرحلان الكهربائي :**

العامل المدروس	قيمة معامل الارتباط بطريقة الاستشراب على العمود	قيمة معامل الارتباط بطريقة الرحلان الكهربائي
MCV	0.561	0.629
RBC	0.322	0.344

قمنا بإيجاد علاقات الارتباط بين المعاملات ثم حسبنا معاملات الارتباط من أجل هذه المعاملات المدروسة (النتائج مبينة في الجدول السابق).

وقد كان معامل الارتباط بين قيم HbA2 ، MCV مقبولاً بينما انخفض معامل الارتباط بين قيم HbA2، RBC أي أن MCV أكثر دلالة من RBC في تشخيص حالة التلاسيميا بيتا الصغرى.

مناقشة النتائج:

إن مقارنة نتائج بحثنا مع نتائج الدراسات المشابهة تجعلنا نخلص إلى ما يلي:

1- إن أصغر قيمة HbA_2 مشخصة لحالة التلاسيميا b الصغرى هي 3.5% من قيمة الخضاب الكلي بطريقة الرحلان الكهربائي.

2- تراوحت قيمة HbA_2 بطريقة الاستشراب على العمود في دراستنا عن 26 مريضا حاملين للتلاسيميا b 3.84 – 6.5% ،بمتوسط قدره 5.354% في حين كانت هذه النسب تتراوح ما بين 4.5 – 7.2% بمتوسط قدره 5.2% في دراسة صينية نشرت عام 1985. [12] في حين اعتبرت دراسة هندية نشرت عام 1999 ، دراسة نيوزيلاندية نشرت عام 2001 أن كل قيمة للخضاب A_2 أكبر من 3.5% تعتبر مشخصة للتلاسيميا الصغرى b. [13، 14]

3- إن قياس الـ MCV (حجم الكرية الوسطي) عند المرضى المشكوك بإصابتهم بالتلاسيميا b يعتبر مشعرا هاما جدا وأكثر فائدة بكثير من إجراء عد الكريات الحمراء RBC ،وقد بينا في دراستنا هذا الأمر وكما بينت أيضا الدراستين الهندية والصينية آنفتي الذكر. [12 ،13 ،15 ،16]

4- إن اعتماد مشعرات Mentzer أو Fraser & England أو Shine &Lal كأدوات مسح عند طلاب المدارس للتمييز ما بين فقر الدم بعوز الحديد وما بين التلاسيميا الصغرى b هو من الأمور الجيدة والتي تؤدي خدمة كبيرة للمجتمع ، خاصة إذا علمنا أن منظم حالات فقر الدم عند الأطفال تؤخذ وتعالج كفقر دم بعوز الحديد ومما يجعل الكثير من حالات b تلاسيميا تعبر دون تشخيص. [17]

التوصيات:

1. أمام كل حالة فقر دم صغير الحجم ناقص الصباغ فإنه من الواجب اتباع مايلي:
   - دراسة وضع الحديد (حديد المصل ، سعة رابطة للحديد ، معامل الاشباع ، فيرتين).
   - دراسة مشعرات الكريات الحمراء بجهاز العد الآلي.
   - إجراء رحلان خضاب كهربائي و/ أو دراسة HbA_2 بالاستشراب على العمود.
   - اعتماد مشعر Mentzer لتوجيه التشخيص
   - تعداد شبكيات وكرة الغولف ودراسة فلم الدم.
2. الأخذ بعين الاعتبار أن تشخيص حالات التلاسيميا الصغرى β أصعب مما يبدو ويحتاج لتقدير دقيق لكمية HbA_2.
3. نقترح اعتماد طريقة الاستشراب على العمود لتحديد كمية HbA_2 كوسيلة تشخيصية مساعدة ذات تكلفة مادية بسيطة ودقة جيدة وذات ارتباط احصائي جيد مع الرحلان الكهربائي للخضاب كما بينت دراستنا.
4. عدم إهمال إمكانية وجود العديد من حالات ألفا تلاسيميا الصغرى والتي تحتاج لدراسة إضافية لتشخيصها. ويعتمد حاليا في التشخيص على إمكانية وجود كرة الغولف بالإضافة لتعداد الشبكيات وأحيانا نصل للتشخيص بعد نفي الأسباب الأكثر شيوعا كعوز الحديد والتلاسيميا بيتا الصغرى.
5. عدم نسيان إمكانية وجود حالات من التلاسيميا بيتا الصغرى التي يصعب تشخيصها بسبب وجود كمية طبيعية من الهيموغلوبين A2 (حالة الحامل الصامت) وتحتاج مثل هذه الحالات لدراسة نسبة السلاسل ألفا إلى بيتا بطرق متخصصة.
6. إن تشخيص b تلاسيميا الصغرى في سن مبكر باستخدام الوسائل التي أشرنا إليها في دراستنا تقدم خدمة كبيرة للمجتمع فيما يخص وقف انتشار هذا المرض بتنبيه الناس قبل الزواج إلى ضرورة تقصي أمراض الخضاب الوراثية عند الشريك قبل الإقدام على الزواج.

المراجع:

.....

1. كتاب الكيمياء الحيوية السريرية (كلية الصيدلة /جامعة دمشق/ 1993– 1994). المؤلفون: محي الدين جمعة /رياض هنداوي/ جمال رنجبال/ وفيقة زرزور.528–527 :15.
2. كتاب أمراض الدم (كلية الطب/ جامعة تشرين/ 1998– 1999). المؤلفون: ميخائيل جرجس /سهام سليمان/ نافع دبرها/ رياض جالق. 58–57 :8 .
3. Bauer,GohnD: Clinical laboratory Methods. The C.V.Mosby Company ST.Louis. Toronto. Princeton,9th ed ,1982. 20:460-461.
4. E.Anne stiene-Martin, cherly A.lotspeich- steininger, John A.koepke: Clinical Hematology. Lippincatt company, 2ed, 1998.15:234-235.
5. Bernadette F.Rodak,Ms, ClspH(NCA), MT (Ascp) SH:Diagnostic Hematology. W.B.saunders Company, 9ed. 1995.18:267—268.
6. Sir.Gohn V.Dacia, S.M.Lewis: practical Haematology. Churchill livingstone, 1996.14:275-278.
7. Tan, Gb:et al: Evaluation of high performance liquid chromatography for routine estimation of hemoglobinA2 and F.J.clin. Pathol 46: 852,1993.
8. Johnson, Cs, Tegos, C.and Bentler, E: thalassemia minor: Routine erythrocyte measurements and differentiation from iron deficiency. Am.J.clin. pathol. 80:31,1982.
9. Denise M.harmening:clinical Haematology. F.A Davis, 2ed .1992. 21: 879-850.
10. Demir A, yarali, FisginT, DuruF, kara A: Most reliable indices in differentiation between thalassemia trait and iron deficiency anemia, Pediatr I nt. 2002 Dec, 44(6)612-6.
11. Afroz M, shamsi TS, Syed S: Predictive value of MCV/RBC Count ratio to discrimin- ate between iron deficiency anaemia and beta thalassaemia trait. JPak Med Assoc. 1998 Jan ; 48(1): 18-9.
12. Ghosh A, Woo JSK, Wan CW, Machenry C, Wong V, Ma Hk, chan V, chan TK: Evaluation of a prenatal screening procedure for beta – thalassaemia carriers in a Chinese population based of the mean corpuscular volume (MCV). Prenat Diagn 1985; 5:59-65.
13. Manjula Maheshwari, sadhna Arora, Madhulika Kabra and P.S.N. Menon: Carrier Screening of b-thala ssemia. Indian Pediatrics 1999;36:1119-1125.
14. Canterbury Scientific LTd: technical product information: 1-Haemoglobin –A1C controls 2-Haemoglobin –A2standards 3-Haemoglobin –F, A2controls .14.pope street. Christchurch NewZealand updated wed, 24/01/2001. Email: mailto :96 20 csl @ canterbuzy scientific.com.
15. Cherly A.Lotspeich – Steiniger, E.Anne stiene – Martine, John A.koepke: clinical Hemato logy. Lippincott Company, 1ed, 1992.15 :219.
16. Roges M, phelan L, Bain B: Screening criteria for beta thalasaemia trait in Pregnant women. J clin Pathol. 1995 Nov ; 48(11) :1054-6.
17. Siradah M, Bilto yy, el Jabour S, Najjar K:Screening secondary school students in the Gaza stril for beta – thalassaemia trait. Clin lab Haematol. 1998 Oct, 20(5):279-83.