

بررسی مقایسه‌ای شاخص‌های CBC بتا تالاسمی مینور و کم خونی فقر آهن

دکتر مازیار غفوری^۱، لیلا مستعان صفت^۲، دکتر شهین شریفی^۱، دکتر لادن حسینی گوهری^۳، دکتر زهره عطارجی^۴

چکیده

سابقه و هدف

افتراق دو کم خونی هیپوکرومیک میکروسیتیک شایع، یعنی کم خونی فقر آهن و تالاسمی مینور نیازمند آزمایش‌های تخصصی و پرهزینه است که در مناطق کم جمعیت در دسترس نمی‌باشند. چند شاخص مشتق از پارامترهای اصلی شمارش سلول برای غربال بیماران کم خون معرفی شده‌اند و در این جا مقایسه می‌شوند.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع مقطعی بود. چهار شاخص MDHL و Shine، Mentzer، England برای ۱۱۰ بیمار تالاسمی مینور اثبات شده و ۶۱ بیمار با کم خونی فقر آهن محاسبه شد. با استفاده از تحلیل منحنی‌های ROC بهترین سطوح آستانه هر شاخص برای دست‌یابی به بالاترین حساسیت ممکن در شناسایی بیماران تالاسمیک انتخاب شد و حساسیت‌ها و ویژگی‌ها محاسبه و مقایسه شد.

یافته‌ها

شاخص Mentzer با حساسیت ۹۰/۹٪ و ویژگی ۸۰/۳٪ بهترین شاخص در شناسایی بیماران تالاسمیک محسوب می‌شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که می‌توان به طور گسترده از شاخص Mentzer با هزینه کم برای غربالگری بیماران با کم خونی هیپوکرومیک میکروسیتیک استفاده کرد و آزمایش‌های ژنتیک، الکتروفورز هموگلوبین و اندازه‌گیری سطوح آهن سرم، فریتین و TIBC را تنها در مراکز ارجاعی و برای بیماران غربال شده و مشکوک درخواست نمود و هزینه‌های بهداشت عمومی را کاهش داد.

کلمات کلیدی: تشخیص افتراقی، تالاسمی مینور، کم خونی فقر آهن

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۰/۱۵

تاریخ پذیرش: ۸۵/ ۲/۲۷

۱- مؤلف مسئول: متخصص آسیب شناسی بالینی و تشریحی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و پایگاه منطقه‌ای آموزشی تهران خیابان وصال - کدپستی: ۱۴۱۶۶۱۳۱۴۱

۲- کارشناس بیوشیمی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و پایگاه منطقه‌ای آموزشی تهران

۳- PhD بیوشیمی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و پایگاه منطقه‌ای آموزشی تهران

۴- پزشک عمومی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و پایگاه منطقه‌ای آموزشی تهران

مقدمه

کم خونی فقر آهن در بسیاری از کشورهای در حال توسعه و بتا تالاسمی در مناطق خاص جغرافیایی از جمله منطقه مدیترانه، از شایع‌ترین علل کم خونی هستند و شیوع توأم آن‌ها در بسیاری از کشورها از جمله ایران مشاهده می‌شود. وجود بیش از ۲۵۰۰۰ بیمار تالاسمی ماژور در ایران، تشخیص زودرس این بیماری را اهمیت می‌بخشد. بتا تالاسمی به طور معمول با الکتروفورز هموگلوبین یا آزمایش‌های ژنتیک اثبات می‌شود و کم خونی فقر آهن با اندازه‌گیری آهن سرم، فریتین و ظرفیت کلی اتصال آهن (TIBC) قطعی می‌گردد. این آزمایش‌ها تنها در آزمایشگاه‌های بزرگ در مراکز شهری قابل انجام هستند و بیماران معمولاً پس از انجام آزمایش‌های ساده‌تر مانند شمارش سلول (CBC) و اندازه‌گیری هموگلوبین در آزمایشگاه‌های کوچک محلی در صورت احتمال ابتلا به مراکز ارجاع می‌شوند. متأسفانه هر دو بیماری در گروه کم خونی‌های هیپوکرومیک میکروسیتیک طبقه‌بندی می‌شوند و شاخص‌های اصلی CBC مانند حجم متوسط گلبول‌های قرمز (MCV) و هموگلوبین متوسط گلبول‌های قرمز (MCH) نمی‌توانند با حساسیت و ویژگی، کافی نقش غربالگر را برای جداسازی بیماران مشکوک بازی کنند. برای دستیابی به شاخصی که بتواند بیماران پرخطر را برای آزمایش‌های تکمیلی و پر هزینه‌تر معرفی کند، Shine، Mentzer، England و Telmissani هر یک شاخص‌های خاصی را ابداع کرده‌اند که با وجود این‌که سال‌هاست به کتاب‌های مرجع وارد شده‌اند، به دلیل عدم آگاهی از کارایی آن‌ها، در کشور زیاد مورد استناد واقع نمی‌شوند (۷-۱). طراحی مطالعه حاضر با این انگیزه صورت گرفت که قابلیت این شاخص‌ها را در افتراق بیماران تالاسمی مینور از سایرین به عنوان یک آزمایش غربالگری بسنجد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مقطعی - توصیفی در طول یک دوره شش ماهه از تیر تا اسفند ۱۳۸۲ تمام بیماران با کم خونی هیپوکرومیک میکروسیتیک (هموگلوبین زنان کمتر از

۱۲g/dl و مردان کمتر از ۱۴g/dl و MCHC کمتر از ۳۲g/dl و HCV کمتر از ۸۰fL) که به آزمایشگاه انتقال خون استان تهران مراجعه کرده‌بودند وارد مطالعه شدند. بیمارانی که بیماری همراه یا زمینه‌ای دیگری داشتند، زنان باردار، بیمارانی که خون یا پیوند مغز استخوان دریافت کرده‌بودند، همچنین بیماران تالاسمی ماژور و موارد کم خونی شدید (هموگلوبین کمتر از ۸g/dl) کنار گذاشته شدند. برای بیماران با دستگاه سیسمکس KX-21N شمارش سلولی انجام شد. همچنین آهن سرم و TIBC به روش نیترو - پاپس (nitro-PAPS) و فریتین به روش الیزا و الکتروفورز هموگلوبین با ژل استات سلولز با pH معادل ۸/۴ انجام شد. مقادیر هموگلوبین A2 توسط کروماتوگرافی ستونی اندازه‌گیری شد. بیماران با هموگلوبین A2 بالاتر از ۳/۵ درصد در گروه تالاسمی مینور و بیماران با آهن سرم کمتر از ۵۰microg/dl و TIBC بالاتر از ۴۵۰microg/dl و فریتین کمتر از ۱۲microg/dl در گروه فقر آهن جای گرفتند. بیمارانی که شرایط هیچ‌یک از گروه‌ها را نداشتند، از مطالعه حذف شدند. تنها یک بیمار شرایط هر دو گروه را داشت که به جهت ارزیابی قابلیت شاخص‌ها برای تشخیص تالاسمی، در گروه تالاسمی مینور جای داده‌شد. شاخص‌های England، Mentzer، Shine و MDHL طبق جدول ۱ برای تمام بیماران محاسبه شد.

جدول ۱: معرفی شاخص‌ها

شاخص	تعریف
England and fraser	HCV-RBC count - 5 × Hb-k
Mentzer	MCV / RBC count
Shine	MCV ² × MCH/100
MDHL	MCHD × RBC count

یافته‌ها

مجموعاً ۱۷۱ بیمار مورد تحلیل قرار گرفتند که ۱۱۰ نفر آنان تالاسمی مینور (۵۴ مرد و ۵۶ زن) و ۶۱ نفر آنان دچار فقر آهن (۱۸ مرد و ۴۳ زن) بودند. برای هر شاخص، یک آزمون t-Student برای بررسی اختلاف میانگین‌ها بین گروه‌های تالاسمی مینور و فقر آهن انجام

بحث

میزان حساسیت شاخص های MDHL و Shine برای تشخیص تالاسمی مینور بسیار کمتر از آن است که این شاخص ها بتوانند نقش یک آزمایش غربالگر را ایفا کنند. حساسیت شاخص های Mentzer و England حول و حوش ۹۰ درصد است که برای غربالگری افراد مشکوک به تالاسمی مینور قابل قبول به نظر می رسد. سطح زیر منحنی کمتر در مورد شاخص England از اعتبار حساسیت محاسبه شده می کاهد و اختلاف زیاد بین سطوح آستانه برای زنان و مردان باعث می شود که قابلیت تعمیم نتایج شاخص England با سؤال مواجه شود. به این ترتیب شاخص Mentzer با حساسیت ۹۱ درصد برای بیماران با شاخص ۱۳/۴ یا کمتر حساس ترین آزمایش غربالگری است. حجم نمونه بالا در مطالعه حاضر اعتبار قابل توجهی به نتایج می بخشد. شاخص MDHL تنها بر روی ۹۶ بیمار آزمون شده است و Mentzer شاخص خود را در ۱۰۳ نفر و England در ۷۲ نفر بررسی کرده اند. همچنین کلیه مطالعات قبلی از مقایسه آستانه اصلی که توسط ابداع کننده شاخص معرفی شده بود استفاده کرده اند، در حالی که به نظر می رسد محاسبه سطوح آستانه به طور محلی، همانگونه که England توصیه کرده است مناسب تر است (۲). در مورد شاخص England که از ثابت K استفاده می کند، بهتر است مقدار K در یک مطالعه پایلوت در آزمایشگاه مورد نظر به دست آید و از سطح آستانه صفر استفاده شود زیرا مقدار K بستگی به شیوه کالیبراسیون دستگاه شمارشگر سلول دارد.

محدودیت های این مطالعه فقدان بیماران تالاسمی آلفای اثبات شده و همچنین تعداد کم بیماران تالاسمی مینور و فقر آهن هم زمان می باشد و حساسیت شاخص ها در این موارد شناخته شده نیست.

هر چند این شاخص ها همگی برای بررسی بیماران با کم خونی هیپوکرومیک میکروسیتیک طراحی شده اند، ولی مقادیر مرجع آن ها در افراد سالم بررسی نشده است.

نتیجه گیری

به نظر می رسد که می توان به طور گسترده از شاخص Mentzer با هزینه کم برای غربالگری بیماران با کم خونی

شد که برای تمام شاخص ها قابل توجه بود ($p < 0.001$) (جدول ۲). از مقادیر آستانه معرفی شده توسط ابداع کنندگان آن ها صرف نظر شد و برای حصول بهترین حساسیت و ویژگی هر شاخص، برای کل بیماران و برای مردان و زنان به طور مجزا، آنالیز منحنی های ROC (Receiver Operator Characteristic) به عمل آمد (جدول ۳). مقادیر آستانه به گونه ای انتخاب شد که با دست یابی به بالاترین حساسیت ممکن، هیچ گاه ویژگی آزمایش از ۸۰ درصد پایین تر نیاید. با همین روش در مورد شاخص England، مقدار ثابت K محاسبه شد.

جدول ۲: آزمون t برای بررسی اختلاف میانگین ها

	T	کم خونی فقر آهن	بنا تالاسمی مینور
هموگلوبین	۵/۷۴	۱۰/۳۹	۱۱/۴۷
هماتوکریت	۵/۲۷	۳۴/۷۳	۳۷/۶۹
MCV	-۱۲/۰۳	۷۲/۴۰	۶۴/۰۱
MCH	-۷/۰۸	۲۱/۸۵	۱۹/۵۱
MCHC	۲/۲۴	۲۹/۹۱	۳۰/۴۶
RBC count	۱۱/۱۸	۴/۸۱	۵/۸۹
MDHL	۱۰/۹۵	۱/۴۵	۱/۷۹
England	-۱۲/۰۶	۱۵/۶۴	۰/۷۷
Mentzer	-۱۱/۶۹	۱۵/۲۵	۱۱/۰۵
Shine	-۹/۷۹	۱۱۵۹	۸۰۸

جدول ۳: نتایج تحلیل منحنی های ROC

حساسیت	ویژگی	آستانه	سطح زیر منحنی	جنسیت	شاخص
۸۲/۱	۸۱/۴	$> 1/54$	۰/۸۹۳	زن	MDHL
۸۵/۲	۸۳/۳	$> 1/73$	۰/۹۱۲	مرد	
۷۴/۵	۸۰/۳	$> 1/64$	۰/۸۷۱	کل	
۷۶/۸	۸۱/۴	> 919	۰/۸۹۵	زن	Shine
۸۵/۲	۸۳/۳	> 915	۰/۹۰۴	مرد	
۸۰/۹	۸۰/۳	> 925	۰/۸۹۹	کل	
۸۷/۵	۸۱/۴	$> 13/6$	۰/۹۳۶	زن	Mentzer
۹۰/۷	۸۳/۳	$> 12/0$	۰/۹۴۵	مرد	
۹۰/۹	۸۰/۳	$> 13/4$	۰/۹۲۹	کل	
۹۱/۱	۸۱/۴	$> 11/0$	۰/۹۳۸	زن	England
۹۰/۷	۸۳/۳	$> 4/1$	۰/۹۳۳	مرد	
۸۴/۵	۸۰/۳	$> 8/5$	۰/۹۰۸	کل	

بیماران غربال شده و مشکوک درخواست نمود و هزینه‌های بهداشت عمومی را کاست.

هیپوکرومیک میکروسیتیک استفاده کرد و آزمایش‌های ژنتیک، الکتروفورز هموگلوبین و اندازه‌گیری سطوح آهن سرم، فریتین و TIBC را تنها در مراکز ارجاعی و برای

References :

- 1- England JM, Fraser PM. Differentiation of iron deficiency from thalassemia trait by routine blood-count. *Lancet* 1973;1:449-452.
- 2- England JM, Fraser PM. Discrimination between iron-deficiency and heterozygous-thalassemia syndromes in differential diagnosis of microcytosis. *Lancet* 1979;1:145-148.
- 3- Mentzer WC. Differentiation of iron deficiency from thalassemia trait. *Lancet* 1973;1:882.
- 4- Shine I, Lal S. Strategy to detect beta - thalassemia minor. *Lancet* 1977;1:692-694.
- 5- Telmissani OA, Khalil S, Roberts GT. Mean density of hemoglobin per liter of blood: a new hematologic parameter with an inherent discriminant function. *Laboratory Hematology* 1999;5:149-152.
- 6- Rodak Bernadette F. *Diagnostic hematology*. 1st ed. Elsevier Science Health Science div;p 1995: 283.
- 7- Nathan David G. *Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood*. 6th ed. Saunders; 1993: 832.

Comparison of cell counter indices in differentiation of beta thalassemia minor from iron deficiency anemia

Ghafouri M.^{1,2}(MD), Mostaan Sefat L.^{1,2}(BS), Sharifi Sh.^{1,2}(MD),
Hosseini Gohari L.^{1,2}(PhD), Attarchi Z.^{1,2} (MD)

¹Iranian Blood Transfusion Organization – Research Center

²Quality Control Section, Tehran Regional Blood Transfusion Center

Abstract

Background and Objectives

Distinguishing two common hypochromic microcytic anemias (i.e. iron deficiency anemia and minor thalassemia) needs expensive laboratory tests not readily available everywhere. A number of indices derived from original cell counter parameters were tried to screen patients; these indices are compared in this study.

Materials and Methods

Four indices of England, Mentzer, Shine and MDHL were calculated for 110 cases of known thalassemia minors and 61 iron deficient. The best cut-off point for each index was selected by receiver operator characteristic (ROC) analysis reaching the highest sensitivity to separate thalassemics from iron deficient. Sensitivity and specificity of indices were compared.

Results

Mentzer's index (sensitivity:90.9, specificity:80.3) had the best results.

Conclusions

It seems Mentzer's index can be used widely to screen hypochromic microcytic anemic patients. Tests like hemoglobin electrophoresis, genetic studies, serum iron, TIBC and ferritin measurement should be reserved for selected patients in referral centers. In this way we reduce public health costs significantly.

Key words: Differential diagnosis, Minor thalassemia, Iron deficiency
SJIBTO 2006; 2(7): 385-389

Received: 4 Jan 2005

Accepted: 17 May 2006

Correspondence: Ghafouri M., MD, IBTO-Research Center
No. 189, Vesal Avenue, Postal Code: 1416613141, Tehran, Iran. Tel: (098912)3488430; Fax: (09821)88959096
E-mail: maziarmd@yahoo.com