

سنجش اعتبار شاخص‌های افتراقی در غربالگری بتا-تالاسمی مینور

آیت احمدی^۱، روح‌اله میرزایی خلیل‌آبادی^۲، مهدی نوروزی^۳، نادر کهن^۴، مانی رمزی^۵

^۱کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

^۲کارشناس ارشد هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

^۳مربی اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

^۴کارشناس ارشد هماتولوژی، مرکز تحقیقات هماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

^۵دانشیار هماتولوژی - انکولوژی، مرکز تحقیقات هماتولوژی - انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: بتا-تالاسمی مینور β -TT (β -Thalassemia Minor) و آنمی فقر آهن IDA (Iron Deficiency Anemia) شایع‌ترین آنمی‌های میکروسیتیک می‌باشند. غربالگری β -TT جهت مشاوره پزشکی قبل از ازدواج و جلوگیری از تولد نوزادان با بتا-تالاسمی ماژور از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. رایج‌ترین مشکل در غربالگری β -TT تمایز آن از آنمی فقر آهن می‌باشد. هدف از این مطالعه مشخص نمودن حساسیت، ویژگی، شاخص یودن و ارزش اخباری بعضی از اندکس‌های تشخیصی جهت غربالگری β -TT در نمونه‌ای از این بیماران است.

روش بررسی: در این مطالعه تشخیصی، از میان بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان نمازی شیراز ۸۲ بیمار با کم‌خونی میکروسیتیک [$MCV < 80$ fl] (میانگین حجم سلولی) انتخاب شدند و ۹ اندکس تشخیصی در تمام این افراد بررسی شد. از این ۸۲ نفر، ۴۲ بیمار مبتلا به β -TT و ۴۰ بیمار مبتلا به IDA بودند. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی و اندکس یودن Youden برای هر کدام از اندکس‌های تشخیصی در غربالگری β -TT بررسی گردید.

یافته‌ها: در این پژوهش هیچ کدام از اندکس‌های تشخیصی حساسیت و ویژگی ۱۰۰٪ نشان ندادند، اما اندکس‌های RDW، Shin&Lal (Red Distribution Width Index) و شمارش گلبول‌های قرمز (RBC) در غربالگری β -TT از ارزش و اعتبار خوبی برخوردار بودند. **نتیجه‌گیری:** بعضی از اندکس‌های تشخیصی مثل RDW، Shin&Lal و اندکس RBC در غربالگری β -TT به عنوان شاخص‌های با ارزش به کار می‌روند.

کلید واژه‌ها: بتا-تالاسمی مینور؛ آنمی فقر آهن؛ تکرارپذیری نتایج پژوهش؛ شاخص‌های افتراقی.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی: mirhem1360@gmail.com

تلفن: ۰۹۱۳۳۹۰۴۲۲۷

تاریخ پذیرش: ۸۸/۴/۱۴

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۱۳

مقدمه

همیشه به درمان احتیاج ندارد، اما تشخیص آن جهت مشاوره پزشکی به خصوص قبل از ازدواج زوج‌های هتروزیگوت اهمیت دارد؛ تا از به دنیا آمدن نوزادی با تالاسمی هموزیگوت جلوگیری شود (۳). تشخیص عموماً بر اساس وجود آنمی هیپوکروم-میکروسیت با توجه به RDW، MCH، MCV و پارامترهای دیگر می‌باشد (۴). اما دیگر آنمی‌های میکروسیتیک به خصوص آنمی فقر آهن می‌توانند تصویر مشابه با بتا-تالاسمی مینور داشته باشند که از این نظر تشخیص افتراقی بین آن‌ها مهم است (۵). استفاده از روش‌های الکتروفورز یا کروماتوگرافی در سنجش میزان هموگلوبین $(HbA_2)A_2$ به عنوان معیار اختصاصی در تشخیص بتا-تالاسمی مینور (۶)، و هم‌چنین در

بتا-تالاسمی یک اختلال با اهمیت بالینی است که به خاطر نقص ژنتیکی در میزان ستر زنجیره بتا-گلوبین ایجاد می‌شود. ژن زنجیره بتا-گلوبین روی کروموزوم ۱۱ قرار دارد. بسته به این که یکی از کروموزوم‌ها یا هر دو دچار نقص شوند، بتا-تالاسمی به دو گروه بتا-تالاسمی ماژور (هموزیگوت) و بتا-تالاسمی مینور (هتروزیگوت) تقسیم می‌شود (۱). بتا-تالاسمی ماژور بر اساس یافته‌های فیزیکی و پارامترهای آزمایشگاهی به طور آسان قابل تشخیص است، اما تشخیص افتراقی بتا-تالاسمی مینور تنها بر اساس تظاهرات بیماری و یا پارامترهای آزمایشگاهی معمول آسان نیست (۲). تالاسمی مینور

- 2- Srivastava Index (SI): $MCH/RBC^{(10)}$
 3- Mentzer Index (MI): $MCV/RBC^{(11)}$
 4- England and Fraser Index (E, F یا DF): $MCV-RBC-(5\text{ Hb})-3/4^{(13)}$
 5- Green and King Index (G, K): $MCV^2 \text{ RDW} / \text{Hb } 100^{(14)}$
 6- RDW Index (RDW I): $MCV \text{ RDW} / RBC^{(15)}$
 7- RBC Count (RBC I)⁽¹⁶⁾
 8- Kerman Index I (KI I): $MCV \text{ MCH} / RBC^{(17)}$
 9- Kerman Index II: $KI \text{ I } 10 / MCHC^{(17)}$

بعد از محاسبه حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی شاخص های بالا در تشخیص بتا-تالاسمی مینور (۱۸) اندکس بودن {۱۰۰- (ویژگی+حساسیت)} تعیین شد (۱۲).

یافته ها

با سنجش میزان هموگلوبین A2 (HbA2) (به عنوان استاندارد طلایی) ۴۲ نفر از بیماران مبتلا به بتا-تالاسمی مینور و ۴۰ نفر دچار فقر آهن تشخیص داده شدند. ۲۰ نفر از بیماران مبتلا به بتا-تالاسمی مینور مرد و ۲۲ نفر زن بوده، و محدوده سنی ۳۴-۱۵ سال داشتند. میزان سطح HbA2 آنها بیش از ۳/۸٪ (بین ۳/۸ تا ۷٪) بود. در ۱۷ بیمار مرد و ۲۳ بیمار زن فقر آهن مشاهده گردید، که این تعداد از نمونه ها در محدوده سنی ۲۴-۸ سال قرار داشتند. میزان آهن سرمی در آنها زیر ۴۰ میکروگرم بر دسی لیتر، TIBC بیش از ۴۰۰ میکروگرم بر دسی لیتر و اشباع ترانسفرین زیر ۱۳٪ بود. میانگین و محدوده تغییرات RBC و هموگلوبین در کم خونی فقر آهن کمتر از بتا-تالاسمی مینور مشاهده شد، اما RDW, MCH, MCV در بتا-تالاسمی مینور سطح پایین تری داشت. تفاوتی در MCHC بین دو گروه دیده نشد. حدود و میانگین پارامترها RBC دو گروه بتا-تالاسمی مینور و آنمی فقر آهن در جدول شماره ۱ مشخص شده است. جدول شماره ۲ نشان دهنده ی تعداد بیماران با تشخیص صحیح توسط هریک از اندکس ها و تعداد کل بیماران واقعی می باشد. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی هر کدام از اندکس ها در مقایسه با سطح HbA2 به عنوان شاخص طلایی برای تشخیص بتا-تالاسمی در بیماران مبتلا به آنمی میکروسیتیک در جدول شماره ۳ نشان داده شده است که با توجه با آن هیچ کدام از اندکس ها در غربالگری بتا-تالاسمی مینور از حساسیت و ویژگی کامل (۱۰۰٪) برخوردار نبودند. بهترین اندکس بودن در شاخص RDW (۹۲٪) و شمارش RBC (۸۲٪) مشاهده گردید.

آزمایش های غربالگری معمولی جهت افتراق تالاسمی مینور و کم خونی فقر آهن مثل: شمارش کامل سلول های خونی (CBC)، آهن سرم، فریتین سرم، TIBC، ذخایر آهن مغز استخوان، پروتوپورفیرین آزاد گلوبول قرمز، و سطح پروتوپورفیرین روی؛ اگرچه بسیار موثر می باشد، اما معمولاً وقت گیر و پرهزینه بوده و ممکن است در تمام مراکز درمانی قابل اجرا نباشد (۷). هم چنین غربالگری بتا-تالاسمی مینور با تکنیک هایی مثل NESTROF (Naked-Eye Single Tube Red Cell Osmotic Fragility Test) و الوشن به دنبال الکتروفورز روی استات سلولز معتبر نمی باشند (۸). امروزه بسیاری از اندکس های تشخیصی بر اساس استفاده از اندکس های گلوبول قرمز است، که این اندکس ها با تجزیه سلول های خونی به دست می آیند (۹-۱۱). بسیاری از محققین از این اندکس ها در تمایز بین بتا-تالاسمی مینور و آنمی فقر آهن استفاده می کنند. تمایز بتا-تالاسمی مینور و کم خونی فقر آهن تنها بر اساس اطلاعات به دست آمده توسط وسایل شمارش سلولی، بدون در نظر گرفتن شاخص های مربوط به این نوع آزمایش ها، مشکل می باشد و موجب می گردد، در بسیاری از موارد تالاسمی، درمان نامناسب آهن یاری توصیه شود (۱۲). هدف از این مطالعه تعیین قدرت (حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی) و اندکس بودن برای شاخص های تشخیصی در غربالگری بتا-تالاسمی مینور در نمونه ای از این بیماران است.

روش بررسی

این مطالعه به روش تشخیصی (Diagnostic) انجام شد. ۸۲ بیمار با آنمی میکروسیتیک ($MCV < 80 \text{ fl}$) با روش نمونه گیری ساده تصادفی از میان بیماران مراجعه کننده به بیمارستان نمازی شیراز، انتخاب شدند. حجم نمونه با آزمون شمارش RBC در مطالعه پایلوت دارای شاخص یودن ۸۵٪ و اختلاف آن با یودن ۹۵٪ به عنوان یودن مطلوب تعیین گردید. سطح هموگلوبین A2 (HbA2) از طریق الکتروفورز با سیستم Helena (Helen Laboratories, Uk) DE-52 (Whatman-England) و مقدار آهن سرم با سیستم اتوماتیک RA-1000 و کیت های تجاری سنجیده شد. جهت سنجش پارامترها و شمارش کامل سلول های خونی (CBC) تمامی نمونه ها با ضد انعقاد Na2-EDTA گرفته شد و ۲ ساعت بعد از نمونه گیری با دستگاه های اتوماتیک سیسمکس تجزیه گردید. شاخص های تشخیصی بر پایه پارامترهای خونی شامل موارد زیر بود:

- 1- Shin and Lal Index (S,L): $MCV^2 \text{ MCH} \text{ } 0/01^{(9)}$

جدول شماره ۱: پارامترهای خونی دو گروه		
میانگین (محدوده IDA)	میانگین (محدوده TT-β)	
۳/۵-۵/۱(۴/۳)	۴/۳-۷/۹۷(۶/۱)	RBC(۱۰ ^{۱۲} /l)
۷/۵-۱۱/۱(۹/۳)	۹/۲-۱۴/۷(۱۱/۹۵)	Hb(g/dl)
۶۸/۲-۷۸/۴(۷۳/۳)	۵۸/۲-۷۶/۵(۶۷/۳۵)	MCV(fl)
۲۱/۴-۲۶/۷(۲۴/۰۵)	۱۸-۲۲/۶(۲۰/۳)	MCH(pg)
۲۹/۶-۳۳/۸(۳۱/۷)	۲۹/۲-۳۳/۴(۳۱/۱)	MCHC(gr/l)
۱۴/۴-۱۹/۸(۱۷/۱)	۱۳/۲-۱۷(۱۵/۱)	RDW(%)
RBC: Red Blood Cell, Hb: Hemoglobin, MCV: Mean cell volume, MCH: Mean Cell Hemoglobin, MCHC: Mean Cell Hemoglobin Concentration, RDW: Red Distribution width		

جدول شماره ۲: ارزش افتراقی هر کدام از اندکس های تشخیصی در تشخیص بیماران				
HbA۲				شاخص
مثبت واقعی (نفر)	منفی واقعی (نفر)	مثبت کاذب (نفر)	منفی کاذب (نفر)	
۴۲	۳۹	۱	۰	Shin & Lal β- TT< 1530
۳۵	۳۶	۴	۷	Sirvastava β- TT <3/8
۳۶	۳۶	۴	۶	Mentzer β- TT <13
۲۲	۳۵	۵	۲۰	E&F β- TT <0
۳۸	۳۵	۵	۴	G&K β- TT<65
۴۲	۳۷	۳	۰	RDW index β- TT <220
۴۰	۳۵	۵	۲	RBC index β- TT >5
۳۹	۳۵	۵	۳	Kerman index II β- TT <85
۳۲	۳۶	۴	۱۰	Kerman index II β- TT <85
β- TT بتا تالاسمی مینور	England و Fraser:F و E	K و G :King و Green	RBC: گلبول قرمز	RDW
Red Distribution Width :				

جدول شماره ۳: حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی برای اندکس های تشخیصی در تمایز بین بتا- تالاسمی مینور و آنمی فقر آهن

اندکس های تشخیصی	(%) حساسیت	(%) ویژگی	(%) ارزش اخباری مثبت	(%) ارزش اخباری منفی
Shin & Lal	β- TT IDA	۱۰۰	۹۸	-
		۲/۵	۰	۵۱
Sirvastava	β- TT IDA	۸۳	۹۰	۸۳
		۹۰	۸۳	۹۰
Mentzer	β- TT IDA	۸۶	۹۰	۸۵
		۹۰	۸۶	۹۰
E&F	β- TT IDA	۵۲	۸۸	۶۳
		۹۰	۵۲	۸۵
G&K	β- TT IDA	۹۰	۸۷	۸۹
		۸۷	۹۰	۸۸
RDW index	β- TT IDA	۱۰۰	۹۲	-
		۹۲	۱۰۰	۹۳
RBC index	β- TT IDA	۹۵	۸۷	۹۴
		۸۷	۹۵	۹۰
Kerman index I	β- TT IDA or normal	۹۳	۸۷	۹۲
		۸۷	۹۳	۸۹
Kerman index II	β- TT IDA or normal	۷۶	۹۰	۷۸
		۹۰	۷۶	۸۹

Red	RBC: گلبول قرمز	Green , king :G,K	England , fraser: E, F	IDA: آنمی فقر آهن	β- TT: بتا- تالاسمی مینور
Disrtribution width :RDW					

میکروسیتیک، آنمی فقر آهن است که از نظر تصویر خونی و CBC تشابه زیادی با بتا- تالاسمی مینور دارد. در نتیجه تمایز بین بتا- تالاسمی مینور و کم خونی فقر آهن در غربالگری بتا- تالاسمی مینور مهم است. میزان کاهش آهن سرم، فریتین و اشباع ترانسفرین و میزان افزایش TIBC، معیارهای اصلی تشخیص در کم خونی فقر آهن هستند (۱۹). تشخیص بتا- تالاسمی مینور بر پایه وجود گلبول های قرمز میکروسیت و میزان افزایش HbA2 می باشد. سنجش میزان آهن و اندازه گیری HbA2 وقت گیر و پرهزینه است. از سال ۱۹۷۳ چند اندکس تشخیصی جهت افتراق بتا- تالاسمی مینور و کم خونی فقر آهن بر اساس یافته های خونی، شمارش کامل سلول های خونی (CBC) و پارامترهای RBC گزارش شده است که این یافته ها با پروسه های خونی معمولی و تجزیه کننده های سلولی به دست می آیند (۹-۱۱)، (۱۳). امروزه محققین معیارهای با ارزش و هرچند متفاوت برای این اندکس های تشخیصی از جمعیت های مختلف گزارش نموده اند. در مطالعه ی حاضر هیچ کدام از اندکس ها در غربالگری بتا-

بحث

یکی از مهم ترین بیماری هایی که همراه با آنمی میکروسیتیک خفیف می باشد، بتا- تالاسمی مینور است. این کم خونی معمولاً نیازی به درمان ندارد، اما غربالگری این کم خونی به خصوص قبل از ازدواج جهت جلوگیری از تولد نوزادی با تالاسمی ماژور در والدین مبتلا به بتا- تالاسمی مینور (هتروزیگوت)، اهمیت دارد. تمایز بین اشخاص مبتلا به بتا- تالاسمی مینور و افراد سالم با آزمایش های ساده، به شرط این که گلبول های قرمز اشخاص سالم نرموسیت باشند (MCV بین ۸۰ تا ۹۰ فمتولتر)، امکان پذیر است، در حالی که اشخاص مبتلا به بتا- تالاسمی مینور کم خونی میکروسیتیک دارند (MCV<80 fl) و تمایز آن ها از سایر کم خونی های میکروسیتیک، به خصوص فقر آهن مشکل است. به عبارت دیگر MCV بیشتر از ۸۰ برای جدا کردن افراد سالم از ویژگی بالایی برخوردار است، اما جهت غربالگری بتا- تالاسمی مینور، تشخیص افتراقی بین بتا- تالاسمی مینور و دیگر آنمی های میکروسیتیک دارای اهمیت می باشد. شایع ترین آنمی

حساسیت خیلی خوب؛ اما ویژگی پایین‌تر در غربالگری بتا-تالاسمی مینور می‌باشند.

نتیجه‌گیری

بر اساس این تحقیق و مطالعات دیگر، بعضی از اندکس‌های تشخیصی گزارش شده دارای اعتبار خوبی در غربالگری بتا-تالاسمی مینور و تشخیص افتراقی از کم‌خونی فقر آهن هستند. در راستای توصیه عمومی به انجام این نوع آزمون‌ها در آزمایشگاه‌ها، نیاز به مطالعات بیشتری برای جمع‌آوری شواهد وجود دارد. با توجه به وابستگی شاخص‌های ارزش‌آزمایی به شیوع بیماری، انجام تحقیقات مشابه در سایر استان‌ها برای سنجش ارزش‌آزمایی منفی و مثبت، می‌تواند مفید باشد. هم‌چنین با مطالعات Cost-Effectiveness می‌توان قابلیت کاربرد این نوع آزمون‌ها را در تشخیص افتراقی بتا-تالاسمی مینور از کم‌خونی فقر آهن مورد ارزیابی قرار داد. در هر حال با توجه به انجام پژوهش‌های مختلف و پراکنده در این زمینه توصیه می‌شود، برای یکسان‌سازی روش‌های انجام این نوع آزمون‌ها و استفاده از آن در سطح کشوری، پیش از انجام مطالعات Cost-Effectiveness، یا حتی مداخله‌ای-تصادفی (RCT) برای ارزشیابی اثر روش جدید غربالگری، در ابتدا یک مطالعه‌ی مروری نظام‌مند (Systematic Review) برای جمع‌آوری و جهت‌دهی شواهد موجود و شناخت نقاط کور اطلاعاتی، انجام گردد.

تالاسمی مینور از حساسیت و ویژگی کامل برخوردار نبودند. اندکس Shin&Lal با ارزش‌ترین اندکس با حساسیت ۱۰۰٪ و ویژگی ۹۸٪ در غربالگری بتا-تالاسمی مینور بود و بهترین شاخص یودن را داشت. اندکس یودن، که اولین بار توسط Demir و همکاران (۱۶) استفاده گردید، هم حساسیت و هم ویژگی را در بر می‌گیرد (۲۰) و نیز یک سنجش مناسب حاصل از یک تکنیک خاص می‌باشد. در این مطالعه بر اساس اندکس یودن، اندکس Shin&Lal، اندکس RDW، اندکس RBC و اندکس کرمان I دارای بالاترین اندکس یودن هستند و با ارزش‌ترین اندکس‌های تشخیصی در غربالگری بتا-تالاسمی مینور می‌باشند. اندکس یودن برای هر کدام از اندکس‌ها از نظر ارزش در زیر مرتب شده است:

Shin, Lal>RDW I>RBC I>Kerman Index I>G, K>Mentzer I>Sirvastava>Kerman Index II>E, F
در مورد اندکس کرمان I ارزش عددی کمتر از ۳۰۰ به نفع بتا-تالاسمی مینور، بین ۴۰۰-۳۰۰ در فقر آهن و موارد هم‌زمان آن با بتا-تالاسمی مینور و بالاتر از ۴۰۰ در افراد سالم دیده شد (۱۷).
در مورد اندکس کرمان II ارزش عددی کمتر از ۸۵ به نفع بتا-تالاسمی مینور، بین ۱۰۵-۸۵ بیان‌گر فقر آهن و موارد هم‌زمان آن با بتا-تالاسمی مینور و بالاتر از ۱۰۵ در افراد سالم مشاهده گردید (۱۷).
اندکس Shin, Lal زیر ۱۵۳۰ نیز تمام افراد مبتلا به بتا-تالاسمی مینور را مشخص نمود، اما یکی از بیماران فقر آهن زیر ۱۵۳۰ بود. این بدین معنی است که اندکس Shin, Lal دارای

References:

- Olivieri NF. The β -Thalassemias. New England Journal of Medicine 1999;341(2):99-109.
- Measures MO. An Algorithm to Aid in the Investigation of Thalassemia Trait in Multicultural Populations. Archives of Pathology and Laboratory Medicine 2000;124(9):1320-3.
- Yasumasa A, Fumio K, Sunil KB, Niriksha BM, Prakash RP, Vijay P, et al. A Study of B Thalassemia Screening Using an Automated Hematology Analyzer. Sysmex Journal International 1998;8(2).
- Bessman JD, Gilmer Jr PR, Gardner FH. Improved Classification of Anemias by MCV and RDW. American Journal of Clinical Pathology 1983;80(3):322.
- Wharton BA. Iron Deficiency in Children: Detection and Prevention. British Journal of Haematology 1999;106(2):270.
- Han P, Fung KP. Discriminant Analysis of Iron Deficiency Anaemia and Heterozygous Thalassemia Traits: A3-Dimensional Selection of Red Cell Indices. Clinical & Laboratory Haematology 1991;13(4):351-62.
- Alfadhli SM, Al-Awadhi AM, Alkhaldi D. Validity Assessment of Nine Discriminant Functions Used for the Differentiation between Iron Deficiency Anemia and Thalassemia Minor. Journal of Tropical Pediatrics 2007;53(2):93-7.
- Rathod DA, Kaur A, Patel V, Patel K, Kabrawala R, Patel M, et al. Usefulness of Cell Counter-Based Parameters and Formulas in Detection of Beta-Thalassemia Trait in Areas of High Prevalence. American Journal of Clinical Pathology 2007;128(4):585.

9. Shine I, Lai S. Strategy to Detect Betathalassemia Minor. Lancet 1977;1:692-4.
10. Srivastava PC, Bevington JM. Iron Deficiency and-Or Thalassaemia Trait. Lancet 1973;1(7807):832.
11. Mentzer Jr WC. Differentiation of Iron Deficiency from Thalassaemia Trait. Lancet 1973;1(7808):882.
12. Okan V, Cigiloglu A, Cifci S, Yilmaz M, Pehlivan M. Red Cell Indices and Functions Differentiating Patients with the Beta-Thalassaemia Trait from those with Iron Deficiency Anaemia. The Journal of International Medical Research 2009;37(1):25.
13. England JM, Bain BJ, Fraser PM. Differentiation of Iron Deficiency from Thalassaemia Trait. Lancet 1973;1(7818):1514.
14. Green R, King R. A New Red Cell Discriminant Incorporating Volume Dispersion for Differentiating Iron Deficiency Anemia from Thalassemia Minor. Blood Cells 1989;15(3):481-95.
15. Jayabose S, Giavanelli J, Levendoglu-Tugal O, Sandoval C, Özkaynak F, Visintainer P. Differentiating Iron Deficiency Anemia from Thalassemia Minor by Using an RDW-Based Index. J Pediatr Hematol Oncol 1999;21:314.
16. Demir A, Yarali N, Fisgin T, Duru F, Kara A. Most Reliable Indices in Differentiation between Thalassemia Trait and Iron Deficiency Anemia. Pediatrics International 2002;44(6):612-6.
17. Golafshan H. The Laboratory Discrimination of Thalassemia Syndrome: Applicable Notes. Shiraz University Medical Science; 2004. [Text in Persian]
18. Rothman KJ, Greenland S, Lash TL. Modern Epidemiology. Lippincott Williams & Wilkins; 2008.
19. Lafferty JD, Crowther MA, Ali MA, Levine M. The Evaluation of Various Mathematical RBC Indices and Their Efficacy in Discriminating Between Thalassemic and Non-Thalassemic Microcytosis. American Journal of Clinical Pathology 1996;106(2):201-5.
20. Beyan C, Kaptan K, Ifran A. Predictive Value of Discrimination Indices in Differential Diagnosis of Iron Deficiency Anemia and Beta-Thalassemia Trait. European Journal of Haematology 2007;78(6):524-6.