● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ دوم، شمارهٔ ۱، ص ۱۱-۱، ۱۳۷۳

مقالهٔ پژوهشی

تعیین بازه‌های مرجع با استفاده از نتایج آزمون‌های روزمره آزمایشگاه

دکتر حمید راهی[۱] و امیر کیانی[۲]

خلاصه

برای داشتن بازه‌های مرجع (Reference ranges) قابل اعتماد و کاهش اثر متغیرهایی مانند روش نمونه گیری، موقعیت جغرافیایی، عادات غذایی، شیوه زندگی و خطاهای احتمالی ضمن انجام آزمایش، توصیه می‌شود هر آزمایشگاه بازه‌های مرجع را، خود تعیین نماید. در بین انواع روش‌های تعیین بازه مرجع روش استفاده از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه بسیار اقتصادی بنظر می‌رسد. به این دلیل و این حقیقت که درکشور ما تقریباً اغلب آزمایشگاهها از بازه‌های متعلق به سایر جوامع استفاده می‌کنند، با تهیه یک نرم‌افزار کامپیوتری بنام KUMS، داده‌های جمع‌آوری شده از آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه مورد پردازش قرار گرفتند. بدین ترتیب مجموعه‌ای از بازه‌های مرجع برای آزمایش‌های خاص و روزمره بیوشیمیایی به شرح زیر تعیین شده است: گلوکز ۱۱۹-۵۵، ازت اوره خون (BUN) ۲۰-۶، کلسترول ۲۷۸-۱۳۸، تری گلیسرید ۱۵۶-۵۷، کراتینین ۱/۲ - ۰/۴۵، اسید اوریک ۷/۱-۲/۸، بیلی روبین تام ۱/۲-۰/۳۹، بیلی روبین مستقیم ۰/۲۳-۰/۱۸، کلسیم ۱۰/۴-۸/۵، فسفر ۵/۶-۲/۵، بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر؛ سدیم ۱۴۳-۱۳۸ و پتاسیم ۴/۸-۳/۸، برحسب میلی‌مول در لیتر؛ هموگلوبین ۱۶/۸-۱۰/۲، پروتئین تام ۷/۱-۶/۶، بر حسب گرم در دسی‌لیتر؛ آسپارتات ترانس آمیناز (GOT) ۲۷-۹، آلانین ترانس آمیناز (GPT) ۲۶-۸، بر حسب واحد در لیتر؛ آهن ۱۶۵-۶۸، تیروکسین (T_4) ۱۲/۴۱-۳/۹۳، برحسب میکروگرم در دسی‌لیتر؛ TSH ۳/۱۳-۰/۳۶، بر حسب میکرو واحد در میلی‌لیتر؛ T_3-Uptake ۳۲-۲۳، بر حسب درصد؛ FTI ۳/۸-۱/۳، برحسب میکروگرم در دسی‌لیتر در درصد. نتایج بدست آمده با بازه‌های مرجع پیشنهادی توسط سازنده‌های کیت مقایسه شده است. بازه‌های مرجع گلوکز، کلسترول و هموگلوبین بدست آمده از یک نمونه برداری خوشه‌ای در شهرستان کرمانشاه نیز مورد مقایسه قرار گرفته است.

واژه‌های کلیدی: بازهٔ مرجع بیوشیمیایی، کرمانشاه

۱ـ استادیار بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کرمانشاه

۲ـ کارشناس شیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کرمانشاه

مقدمه

تفسیر صحیح یافته‌های آزمایشگاهی از طریق مقایسه با ارزش‌ها یا بازه‌های مرجع (Reference Values or Ranges) یکی از مراحل مهم در تشخیص به روش مقایسه‌ای است. آنچه که کارآیی این نوع تفسیرها را افزایش می‌دهد در اختیار داشتن بازه‌های مرجع برای طبقات مختلف افراد از نظر سن، جنس، سالم بودن و یا مراحل مختلف از یک بیماری خاص می‌باشد. علاوه بر این، داشتن مقادیر قبلی از همان بیمار معیار بسیار خوبی برای مقایسه خواهد بود. قبل از آنکه نتایج آزمایشگاهی یک بیمار با بازه‌های مرجع مقایسه شود باید مطمئن بود مشخصات و شرایط گروه مرجع از هر نظر با شرایط بیمار مطابقت دارد (۶،۱۶،۲۵). از آنجائیکه رعایت تمام شرایط بدلایل بسیار از جمله صرف هزینه و وقت زیاد برای پزشک و آزمایشگاه عملاً امکان‌پذیر نیست، توصیه می‌شود هر آزمایشگاه بازه‌های مرجع را خود تعیین نماید تا بدین ترتیب از تأثیر متغیرهایی از قبیل موقعیت جغرافیایی، آداب فرهنگی، وضع تغذیه و روش‌های نمونه‌گیری تا اندازه زیادی کاسته شود (۶،۲۱،۲۸).

در تعیین بازه‌های مرجع رسم بر این است که مقدار یک ماده خاص را در مایعات (خون، نخاع، ادرار و ...) بدن یک گروه از افراد "ظاهراً سالم" اندازه‌گیری می‌کنند و با نتایج بدست آمده، بازه‌ای را تعیین می‌نمایند که به آن بازه طبیعی (Normal Range) می‌گویند (۶). باید در نظر داشت گرچه بطور کلی از نظر کلینیکی، گروهی از افراد که عاری از عوارض غیر طبیعی آشکار و یا فراوان هستند را می‌توان افرادی سالم دانست ولی اصطلاح "سالم" از نظر بیوشیمیایی براحتی قابل تعریف نیست. ممکن است در عین حال که یافته‌های بیوشیمیایی نسبتاً بالا و یا پایین باشند غیرطبیعی بودن آنقدر پیشرفت نکرده باشد که از نظر کلینیکی قابل تشخیص باشد. بدلیل فوق و اینکه از کلمه نرمال ممکن است برداشت‌های مختلفی شود فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی (IFCC) بکارگیری ارزش‌های مرجع بجای، ارزش‌های نرمال (Normal Values) را پیشنهاد کرده است (۲۵،۲۶).

برای محاسبه بازه‌های مرجع روش ایده‌آل آن است که از تمام جامعه مورد نظر نمونه‌گیری شود ولی از آنجائیکه مطالعه تمامی افراد یک جامعه مقدور نیست با بکارگیری آزمون‌های آماری مناسب از یک زیر جامعه، با یک ترکیب سنی و جنسی خاص استفاده می‌شود. این روش نیز مستلزم صرف هزینه و وقت نسبتاً بالایی خواهد بود. با توجه به این مشکلات و اینکه بیشتر اشخاصی که بطور روزمره برای انجام آزمایش به آزمایشگاه مراجعه می‌نمایند افرادی "ظاهراً سالم" هستند روشهای آماری خاصی پیشنهاد شده که می‌توان از این افراد نیز برای تعیین بازه‌های مرجع استفاده کرد (۶،۱۰،۱۱،۲۱). در زمانی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی در انجام طرح سلامت عمومی یک خوشه از مردم شهرستان کرمانشاه را متناسب با جمعیت و بر اساس پراکندگی سن و جنس انتخاب و میزان گلوکز، کلسترول و هموگلوبین آنها را در آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه اندازه‌گیری نمود. از آنجا که استفاده از نتایج مراجعه‌کنندگان به آزمایشگاه کمتر متداول و به صحت آن نیز کمتر اعتماد است بر آن شدیم بازه‌های مرجع چند پارامتر بیوشیمیایی را با استفاده از نتایج آزمایشهای روزمره در همان آزمایشگاه محاسبه و درستی آنها را با مقایسه با بازه‌های مرجع حاصل از طرح سلامت عمومی بررسی نماییم.

مواد، وسایل و روش کار

برای تعیین مقدار هموگلوبین از خون تام سیتراته و در تعیین سایر مواد از سرم افراد ناشتای مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه استفاده شده است. اندازه‌گیری T_4 و T_3 به روش رادیوایمینواسی (IRA) و TSH به روش ایمونورادیومتریک (IRMA) و به کمک دستگاه Gammamatic-II (Kontron, Gamma Counting) و کیت‌های شرکت DPC انجام گرفته است. سدیم و پتاسیم با دستگاه فلیم فتومترکورنینگ مدل ۴۰۵ و هموگلوبین بوسیله دستگاه کولترکانتر مدل ۸۹۰ کارخانه Coulter Electronic انگلستان، تعیین مقدار شده‌اند. گلوکز به روش آنزیمی گلوکز دهیدروژناز (۲۴)، کلسترول به روش آنزیمی کلسترول اکسیداز (۲)، ترانس آمینازها به روش شیمیایی ریتمن (۲۲)، تری گلیسرید به روش آنزیمی اشمیت (۳)، کراتینین به روش شیمیایی جافه (۱۲)، اسیداوریک به روش آنزیمی اوریکاز (۹)، ازت اوره خون به روش آنزیمی اوره آز و گلوتامات دهیدروژناز (۲۴) و فسفر به روش فیسک و سوبارو (۳) و به کمک اتوآنالیز Centrifichem System 600 اندازه‌گیری شده‌اند.

پروتئین تام به روش بیوره (۳)، کلسیم به روش تیترومتری (۱۳)، بیلی‌روبین به روش مالوی و اولین (۳) و آهن به روش پیترز (۱۹) به صورت دستی انجام شده‌اند. داده‌ها با استفاده از رایانه و نرم‌افزاری اختصاصی بنام KUMS بررسی و پردازش شده‌اند. در نوشتن نرم‌افزار از مرجع شماره ۷ و در چاپ نمودارها

از نرم‌افزار Pizazz (۲۰) کمک گرفته شده است.

میانگین هر یک از پارامترهای بیوشیمیایی، در نمونه زنها و مردها به دو طریقه تعیین محدوده اطمینان ۹۵٪ اختلاف میانگین‌ها (95% Confidence Limits for Difference of Two Means) و آزمون Unpaired T-Test مقایسه شده است (٤). حد پایین و بالای قابل اعتماد به روش nonparametric (۱۰،۱۷،۲۵) و همگن بودن واریانس‌ها در نمونه زنها و مردها با استفاده از F-Test (۱۸) و ضریب اطمینان ۹۰٪، ($P<0/01$) بررسی شده است. رابطه سن و تغییرات غلظت هر ماده با استفاده از همبستگی خطی و همچنین مقایسه میانگین هر ماده در چهار گروه سنی زیر دو سال (گروه ۱)، بین دو تا زیر نوزده سال (گروه ۲)، بیست تا سی ونه سال (گروه ۳) و چهل سال و بالاتر (گروه ٤)، با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) و روش Duncan's Multiple Range Test (۱۵) انجام شده است.

نتایج

در این بررسی اطلاعات مربوط به ۱۹۳٦ مراجعه کننده با میانگین سنی ۳۲ سال که بطور تصادفی انتخاب شده بودند جمع‌آوری و مورد بررسی‌های آماری قرار گرفته است. با پردازش داده‌های هر آزمایش شاخص‌های آماری متعددی محاسبه شده که بمنظور جلوگیری از حجیم شدن مقاله و بعلت

جدول ۱ :*توزیع گلوکز در سرم ۱۲۴۹ نفر مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه همراه با شاخص‌های آماری مربوطه. سایر توضیحات در متن داده شده است.*

درصدفراوانی تجمعی	فراوانی تجمعی	فراوانی	مقدار گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
۹۱	۱۱۳۲	۱۱۳۲	۴۱-۱۲۱
۹۷	۱۲۰۷	۷۵	۱۲۱-۲۰۱
۹۹	۱۲۳٦	۲۹	۲۰۱-۲۸۱
۱۰۰	۱۲۴٦	۱۰	۲۸۱-۳٦۱
۱۰۰	۱۲۴۸	۲	۳٦۱-۴۴۱
۱۰۰	۱۲۴۸	۰	۴۴۱-۵۲۰
۱۰۰	۱۲۴۸	۰	۵۲۰-٦۰۰
۱۰۰	۱۲۴۸	۰	٦۰۰-٦۸۰
۱۰۰	۱۲۴۸	۰	٦۸۰-۷٦۰
۱۰۰	۱۲۴۹	۱	۷٦۰-۸۴۰
حد = ۷۹۹		بیشترین = ۸۴۰	کمترین = ۴۱
نما = ۸۲/۳۱		میانه = ۷۹	میانگین = ۸۹/۵۳
اریب = ۰/۱۵		پخی = ۰/۲۱	

جدول ۲ :*توزیع گلوکز همراه با شاخص‌های آماری مربوطه در سرم ۱۰۸۱ مراجعه‌کننده به آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه؛ این افراد پس از بازرسی چشمی منحنی پراکندگی گلوکز ۱۲۴۹ مراجعه‌کننده (منحنی ۱) و حذف افراد در ناحیه CF% کمتر از ۳ و بیشتر از ۹۰ انتخاب شده‌اند.*

درصد فراوانی تجمعی	فراوانی تجمعی	فراوانی	مقدار گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
۹	۱۰۰	۱۰۰	۵٦-٦۲
۲۳	۲۴۵	۱۴۵	٦۲-٦۸
۴۲	۴۵۲	۲۰۷	٦۸-۷۴
۵۷	٦۲۱	۱٦۹	۷۴-۸۰
۷۲	۷۸۱	۱٦۰	۸۰-۸٦
۸۳	۸۹۴	۱۱۳	۸٦-۹۲
۸۹	۹٦۰	٦٦	۹۲-۹۸
۹۴	۱۰۱۳	۵۳	۹۸-۱۰۴
۹٦	۱۰۳۸	۲۵	۱۰۴-۱۱۰
۱۰۰	۱۰۸۱	۴۳	۱۱۰-۱۱٦
حد = ۶۰		بیشترین = ۱۱۶	کمترین = ۵۶
نما = ۷۱/۷		میانه = ۷۶	میانگین = ۵۹/۷۹
اریب = ۰/۵۷		پخی = ۰/۲۶	

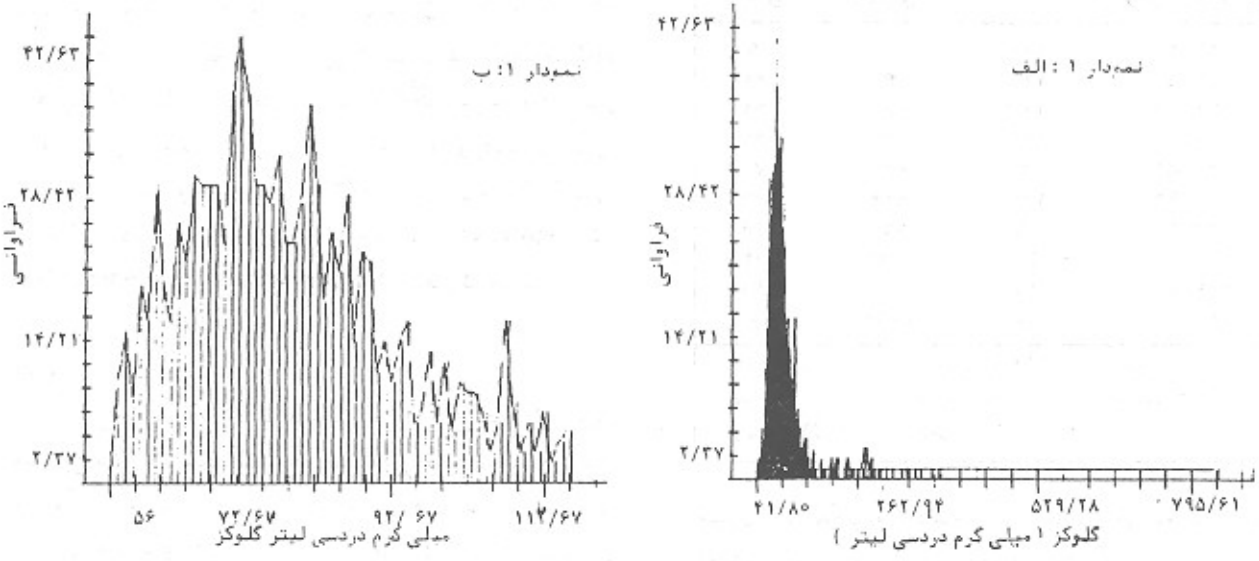
جدول ۳ : *میانگین و بازه مرجع گلوکز در سرم مراجعه‌کنندگان به آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه قبل (*) و بعد (**) از تصحیح به روش بازرسی چشمی و به تفکیک زن و مرد. سایر اطلاعات در متن و زیرنویس جدول شماره ۲ داده شده است.*

	کل		زنان		مردان	
	*	**	*	**	*	**
تعداد	۱۲۴۹	۱۰۸۱	۷۷۰	٦٦۴	۴٦٦	۴۰۷
میانگین	۸۹/۵	۷۹/۵	۸۹/٦	۷۹/۲	۸۹/۰	۸۰/۲
انحراف از معیار	۴۵	۱۴	۵۰	۱۴	۳۵	۱۳
ضریب تغییر(CV)	۵۱	۱۷	۵٦	۱۸	۳۹	۱٦
حد پایین	۵۵	۵۹	۵۴	۵۸	۵۷	٦۰
حد بالا	۲۱۱	۱۱۰	۲۲۷	۱۰۹	۲۰۲	۱۰۹

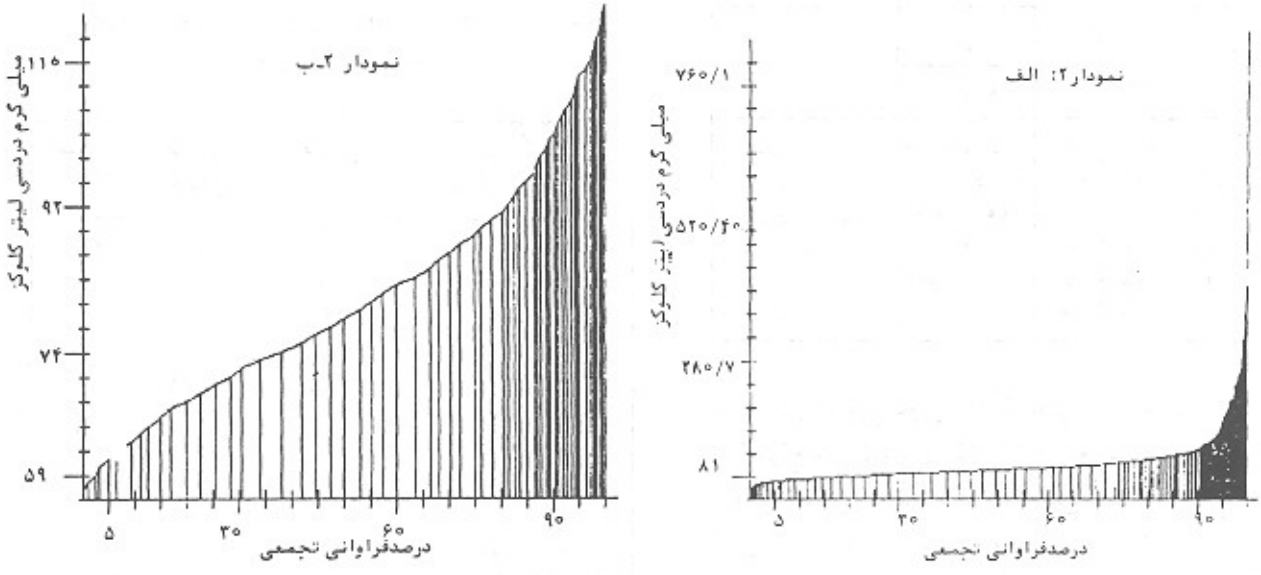
تشابه به ارائه نتایج گلوکز و یا آن بخش از نتایج سایر آزمایش‌ها که احتیاج به بحث داشته باشند اکتفا شده است. جدول ۱ فراوانی، فراوانی تجمعی، درصد فراوانی تجمعی، میانگین، میانه، نما، کمترین و بیشترین مقدار، بازه، میزان عدم تقارن و یا اریب (Skewenes) و پخی (Kurtosis) در منحنی پراکندگی گلوکز سرم ۱۲٤۷ نفر مراجعه کننده به آزمایشگاه را نشان می‌دهد (۱۵). در جدول ۲ همان نوع اطلاعات برای ۱۰۸۱ نفر مراجعه کننده،

ظاهراً سالم ارائه شده است. نمودارهای ۱ و ۲ به ترتیب توزیع فراوانی و درصد فراوانی تجمعی گلوکز را نشان می‌دهند.

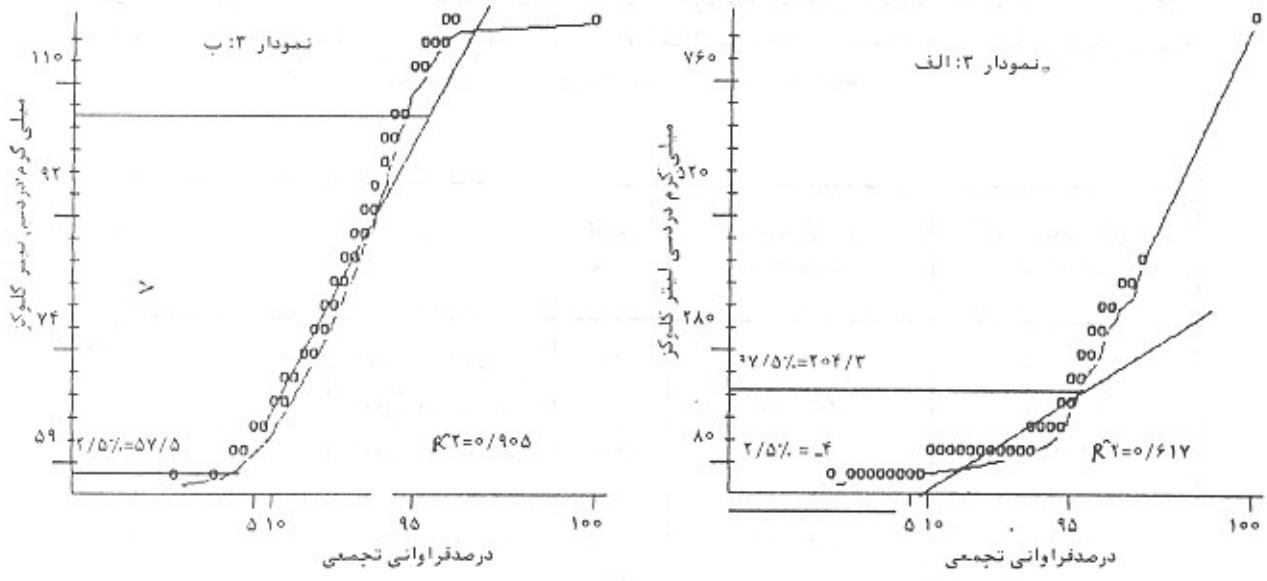
در نمودار ۳ رابطه مقادیر مختلف گلوکز با درصد فراوانی تجمعی در مقایسه با پراکندگی استاندارد نرمال نشان داده شده است (۱،۶،۷). در جدول ۳ تعداد نمونه، میانگین، انحراف معیار، انحراف معیار نسبی حد پایین (۲/۵ صدک) و بالای (۹۷/۵ صدک) قابل اعتماد گلوکز برای مجموع نمونه‌ها و به تفکیک زن و مرد ارائه شده است (۱۵،۱۸،۲۵). در جدول ٤ بازه‌های محاسبه شده برای ۲۱ پارامتر بیوشیمیایی همراه با بازه پیشنهادی از طرف سازندگان کیت‌ها و یا مراجع خلاصه شده است.



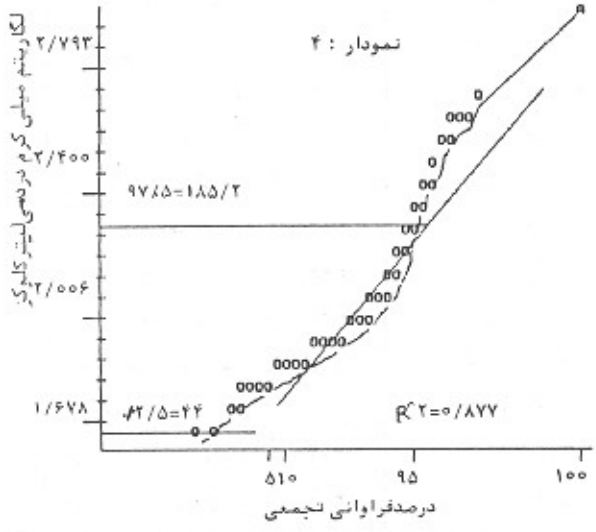
نمودار ۱ : *توزیع فراوانی گلوکز در سرم مراجعین به آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه الف قبل، ب بعد از تصحیح به روش بازرسی چشمی*



نمودار ۲ : *مقادیر گلوکز بر حسب درصد فراوانی تجمعی الف قبل، ب بعد از تصحیح به روش بازرسی چشمی*



نمودار ۳ : رابطه مقادیر گلوکز با درصد فراوانی تجمعی در مقیاس پراکندگی نرمال استاندارد الف قبل، ب بعد از تصحیح به روش بازرسی چشمی



نمودار ۴ : رابطه لگاریتم مقادیر گلوکز سرم مراجعین به آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه و درصد فراوانی تجمعی در مقیاس پراکندگی نرمال استاندارد

جدول ۴ :بازه‌های مرجع برای ۲۱ آزمایش بیوشیمیایی در آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه همراه با بازه‌های پیشنهادی از طرف سازندگان کیت‌ها و یا مراجع معتبر بیوشیمیایی. در مورد گلوکز، کلسترول و هموگلوبین بازه‌های محاسبه شده با استفاده از داده‌های طرح سلامت عمومی نیز ارائه شده است (موارد با علامت *).

تست	واحد	تعداد بیماران	محدوده بازه‌های محاسبه شده	محدوده بازه‌های پیشنهادی
گلوکز	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۱۲۴۷	۵۵-۱۱۹	۷۵-۱۱۵
گلوکز*	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۱۰۰۳	۴۶-۱۱۰	۷۵-۱۱۵
ازت اوره	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۹۷۵	۶-۲۰	۸-۲۵
کلسترول	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۶۳۲	۱۳۸-۲۷۸	۱۱۴-۲۶۲
کلسترول*	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۱۱۲۴	۱۱۴-۲۹۳	۱۱۴-۲۶۲
تری گلیسرید	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۶۱۶	۵۷-۱۵۶	۲۳-۱۵۸
کراتینین	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۲۹۶	۰/۴۵-۱/۲	۰/۷-۱/۶
اسیداوریک	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۵۴۳	۲/۸-۷/۱	۲/۵-۸
بیلی‌روبین کل	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۲۸۰	۰/۳۹-۱/۲	۰/۰-۱/۴
بیلی‌روبین مستقیم	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۲۶۷	۰/۱۸-۰/۲۳	۰/۰-۰/۲۰
کلسیم	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۱۴۹	۸/۵-۱۰/۴	۸/۶-۱۰/۴
فسفر	میلی‌گرم در دسی‌لیتر	۱۴۴	۲/۵-۵/۶	۲/۵-۶/۵
سدیم	میلی‌مول در لیتر	۱۱۹	۱۳۸-۱۴۳	۱۳۶-۱۴۶
پتاسیم	میلی‌مول در لیتر	۱۰۱	۳/۸-۴/۸	۳/۵-۵/۱
آهن	میکروگرم در دسی‌لیتر	۲۴۲	۶۸-۱۶۵	۶۰-۱۶۰
هموگلوبین	گرم در دسی‌لیتر	۱۷۲	۱۰/۲-۱۶/۸	۱۲-۱۸
هموگلوبین*	گرم در دسی‌لیتر	۱۰۱۹	۱۱-۱۷	۱۲-۱۸
پروتئین کل	گرم در دسی‌لیتر	۱۸۲	۶/۶-۷/۱	۵/۵-۹
SGOT	واحد در لیتر	۳۴۴	۹-۲۷	۷-۲۳
SGPT	واحد در لیتر	۳۳۳	۸-۲۶	۵-۲۳
T_4	میکروگرم در دسی‌لیتر	۵۶۴	۳/۹۳-۱۲/۴۱	۴/۵-۱۲/۵
T_3-Uptake	درصد	۱۶۷	۲۳-۳۲	۲۵-۳۷
FTI	میکروگرم در دسی‌لیتر درصد	۲۰۲	۱/۳-۳/۸	۱/۵-۴
TSH	میکرو واحد در میلی‌لیتر	۳۳۰	۰/۳۶-۳/۱۳	۰/۳-۴/۵

بحث و نتیجه‌گیری

تعیین بازه‌های مرجع از ضروریات آزمایشگاه بالینی است. اصطلاح ارزش‌های نرمال که در گذشته بسیار مورد استفاده قرار می‌گرفت تقریباً معادل ارزش‌های مرجع برای افراد سالم است (۲۳،۲۵)، که برابر غلظت یک ماده در مایع و یا ترشحات افرادی است که از نظر کلینیکی ظاهراً سالم (نرمال) هستند. گرچه در این تعریف ارزش نرمال معادل ارزش مرجع برای افراد سالم و یا ظاهراً سالم در نظر گرفته شده است ولی از آنجائیکه از کلمه نرمال برداشت‌های مختلفی می‌شود فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی (IFCC) برای جلوگیری از سردرگمی در بکارگیری اصطلاح ارزش‌ها و یا بازه‌های نرمال، واژهٔ ارزش‌های مرجع و یا بازه‌های مرجع را توصیه و چنین تعریف می‌کند: "بازهٔ مرجع در شیمی بالینی بازه‌ای است که پس از تجزیه یک ماده در مایعات بدن افرادی با مشخصات تعریف شده محاسبه می‌شود. از این بازه‌ها فقط جهت مقایسه افراد مشابه می‌توان استفاده کرد" (۲۶).

در تعیین بازه‌های مرجع، داده پردازی بسته به تعداد، نوع و پراکندگی داده‌ها و نوع بازهٔ مرجعی که مورد نظر است متفاوت خواهد بود. بطور ایده‌آل در تعیین بازهٔ مرجع بهتر است از تمام افراد جامعه مورد نظر نمونه‌برداری شود و در صورت برخورداری نمونه‌ها از پراکندگی نرمال پیشنهاد می‌شود از منهای دو تا باضافهٔ دو برابر انحراف معیار از میانگین ($\bar{X} \pm 2SD$) بعنوان بازهٔ مرجع آن جامعه در نظر گرفته شود. مشخص است مطالعهٔ تمام جامعه مقدور نیست ولی هر چه اندازه نمونه بزرگتر باشد احتمال اینکه شاخص‌های آماری محاسبه شده به پارامترهای آماری جامعه نزدیک‌تر باشد زیادتر خواهد بود. در عمل پیشنهاد می‌شود حداقل از صد نفر نمونه گرفته شود (۱۶). در صورتیکه پراکندگی ماده مورد آزمایش بسته به سن و جنس متفاوت باشد این حداقل نیز افزایش خواهد یافت. این در حالی است که در اختیار داشتن همان تعداد صد نفر هم هزینه نسبتاً بالایی را شامل خواهد شد. بنابر این در بیشتر موارد با بکارگیری روش‌ها و آزمون‌های آماری خاص با تعداد نمونه و البته میزان اعتماد کمتر این کار انجام می‌شود. با توجه به مسائل فوق برای آزمایشگاههای بالینی استفاده از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه می‌تواند جایگزین بسیار مناسبی باشد. این روش از مزیت در اختیار داشتن تعداد زیاد نمونه و هزینه بسیار پایین برخوردار است. علاوه بر این با ورود رایانه به عرصه فعالیت آزمایشگاهها اجرای این روش بسیار آسان است. اساس روش استفاده از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه بر پایه این پیش فرض استوار است که در انواع آزمایش‌هایی که در آزمایشگاههای تشخیص طبی انجام می‌شود، اکثریت قابل توجه‌ای از نتایج در بازهٔ طبیعی قرار دارند. این پیش فرض با کمی دقت در نتایج آزمایشهای روزمره مراجعه کنندگان قابل قبول است (۱۰). تفکیک نتایج بیماران از افراد سالم عمدتاً بر این اساس انجام می‌شود که نتایج اقلیت غیر طبیعی در دو انتهای منحنی پراکندگی (نمودار ۱) قرار دارند و اغلب به نتایج اکثریت نرمال پیوسته نیستند (جدول ۱).

بر این اساس با استفاده از یک و یا چند روش زیر می‌توان با اطمینان نسبتاً زیادی این دو جمعیت را از هم تمیز داد و برای هر یک شاخص‌های آماری را به تفکیک محاسبه کرد.

۱- بازرسی چشمی (Visual Inspection): قبل از بکارگیری هر نوع روش تفکیک جمعیت‌های سالم از بیمار یک بازرسی چشمی از جدول و منحنی فراوانی و همچنین منحنی درصد فراوانی تجمعی از ضروریات است. در منحنی پراکندگی نرمال، میانگین، میانه و نما مقادیری نزدیک به هم دارند. اریب یا عدم تقارن (Skewenes) و پخی (Kurtosis) منحنی نرمال استاندارد بترتیب صفر و حدود ۲۶٪ است. وجود نمونه‌هایی از جمعیت‌های دیگر در مطالعه معمولاً موجب عدم تقارن منحنی توزیع فراوانی خواهد شد. عدم همبستگی تعدادی از نمونه‌ها با اکثریت را در جدول و منحنی فراوانی براحتی می‌توان مشاهده کرد. این پدیده در منحنی فراوانی تجمعی موجب خمیدگی و یا تعویض شیب در نواحی عدم همبستگی (اغلب در دو انتها) می‌شود. در رسم منحنی مقادیر ماده مورد آزمایش بر حسب فراوانی تجمعی در مقیاس استاندارد، چنانچه پراکندگی نرمال باشد خط راست حاصل خواهد شد. میزان انحراف از خط راست (ضریب همبستگی پایین) نشانه میزان انحراف از حالت پراکندگی نرمال است (۲۱،۲۵). مقادیر مربوط به اقلیت از خط ایده‌آل فاصله بیشتری خواهند داشت. بنابر این و با توجه به جدول فراوانی و یا منحنی‌های فوق با اطمینان نسبتاً زیادی مقادیر مربوط به بیماران را می‌توان تشخیص و آنها را از محاسبه حذف نمود. بطور مثال در جدول و نمودار ۱ مقادیر گلوکز حدود ۱۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به بالا، از فراوانی بسیار پایین برخوردارند و هر چه مقدار گلوکز افزایش پیدا می‌کند پیوستگی خود را نیز، با سایر مقادیر از دست می‌دهند. در نمودار ۲-الف در ناحیه‌ای از منحنی مربوط به فراوانی تجمعی حدود ۹۰٪، تغییر شیب محسوس است. از این ناحیه به بعد مقادیر گلوکز متعلق به جمعیتی با خصوصیات متفاوت از جمعیت قبلی است. در نمودار ۳-الف ضریب همبستگی نسبتاً پایین ۶۱٪، نشانه پراکندگی غیر

نرمال مقادیر گلوکز در کل نمونه است. جدول ۲ و منحنی‌های ۲-ب و ۳-ب پس از بازرسی چشمی جدول و نمودار توزیع فراوانی و نمودار فراوانی تجمعی گلوکز و حذف مقادیر با فراوانی تجمعی کمتر از ۳٪ و بیشتر از ۹۰٪ محاسبه و رسم شده‌اند. نزدیک بودن مقادیر میانگین، میانه و نما (جدول ۲) و همچنین نزدیک بودن به حالت نرمال استاندارد را پس از این تصحیح می‌توان مشاهده کرد (ضریب همبستگی ۹۰/۵٪، نمودار ۳-ب).

۲- انتقال در مقیاس لگاریتمی (Log Transformation): در مواردی کنار گذاشتن تعدادی از نمونه‌ها که به نمونه اصلی وابستگی ندارند از طریق رسم لگاریتم مقادیر بر حسب فراوانی تجمعی در مقیاس پراکندگی استاندارد نرمال ممکن می‌شود (۲۵). در برخی از موارد چنین نمودارهایی از پراکندگی نرمال برخوردار خواهند بود. بنابر این مقادیر مربوط به ۲/۵ الی ۹۷/۵ درصد نمونه‌ها و یا $\bar{X} \pm 2SD$ را می‌توان بعنوان بازهٔ مرجع در نظر گرفت. نمودار شماره ٤ با داده‌های گلوکز پس از این نوع انتقال رسم شده است. در این روش گرچه ضریب همبستگی از ٦۱٪ (نمودار ۳-الف) به ۸۷٪ افزایش یافته است ولی این افزایش باندازه افزایش پس از تصحیح به روش بازرسی چشمی (نمودار ۳-ب) نمی‌باشد.

۳- محک‌زدن بازه (Range Criterion): این روش برای حذف مقادیر ناپیوسته‌ای است که بعلت خطا در اندازه‌گیری و یا نمونه‌برداری حاصل شده‌اند. در این روش پس از بازرسی چشمی از نمودار توزیع فراوانی و مشاهده عدم همبستگی شدید، داده‌ها بترتیب صعودی مرتب می‌شوند. اگر آخرین عدد از عدد ماقبلش باندازه یک سوم کل بازه (تفاوت بزرگترین و کوچکترین عدد) تفاوت داشته باشد، از محاسبه حذف می‌شود. این کار برای اعداد بعدی نیز ادامه می‌یابد تا بدین ترتیب اعداد ناهمگن حذف شوند (٤).

از بین روش‌های فوق بازرسی چشمی را بسیار مفید یافتیم. با دقت نظری در نمودار فراوانی تجمعی وجود دو و یا چند جمعیت رابراحتی می‌توان تشخیص داد. با این روش برای آزمایش‌های مختلف بیوشیمیایی داده‌های مربوط به افراد ظاهراً سالم را مشخص و با آنها بازه‌های مرجع را برای هر آزمایش تعیین کردیم (جدول ٤). بازه‌های تعیین شده معادل ۲/۵ الی ۹۷/۵ صدک (Percentile) می‌باشند که بروش nonparametric محاسبه شده‌اند. این روش مستقل از نرمال بودن پراکندگی است و بهمین دلیل نسبت به روش $\bar{X} \pm 2SD$ از قابلیت اعتماد بیشتری برخوردار است (۱۰،۲۵). هم‌زمان با اجرای این طرح در اجرای طرح سلامت عمومی از سوی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، خوشه‌ایی از مردم ناحیه کرمانشاه انتخاب و از آنها برای چند آزمایش مختلف از جمله گلوکز، کلسترول و هموگلوبین نمونه‌گیری بعمل آمد. نمونه‌های این طرح نیز در آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه اندازه‌گیری شدند. یافته‌های این طرح نیز مورد بررسی‌های آماری قرار گرفت (جدول ٤). در اجرای طرح سلامت عمومی جداسازی سرم از لخته، حداقل ٤ ساعت پس از نمونه‌گیری صورت گرفته است، بهمین دلیل، حد پایین و بالای بازه گلوکز ۹ واحد کمتر از بازهٔ بدست آمده برای مراجعه کنندگان به آزمایشگاه محاسبه شده است. بازهٔ بدست آمده برای کلسترول در گروههای مراجعه کننده به آزمایشگاه (گروه ۱) و افراد شرکت‌کننده در طرح سلامت عمومی (گروه ۲) ظاهراً متفاوت است. معمولاً پزشکان، آزمایش کلسترول را کمتر برای افراد زیر بیست سال درخواست می‌دهند. بهمین دلیل از مجموع ٦۳۲ نمونه سرمی که آزمایش کلسترول داشتند کمتر از ۳۰ نمونه متعلق به افراد زیر ۲۰ سال بود. همین عامل موجب بالاتر بودن حد پایین بازهٔ کلسترول در گروه ۱ نسبت به گروه ۲ شده است. در واقع بازهٔ محاسبه شده برای گروه ۱ متعلق به افراد بالغ است. به عبارتی دیگر چون روش استفاده از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه، از نظر جمع‌آوری داده‌ها، یک مطالعهٔ گذشته‌نگر است، در مواردی از این قبیل ممکن است بازه‌های بدست آمده متعلق به گروه جنسی و یا سنی خاصی باشند. در عین حال چون مراجعه کنندگان آن آزمایشگاه نیز با همان گروهها سازگاری خواهند داشت مشکل عمده‌ای ایجاد نخواهد شد. میانگین و بازهٔ بدست آمده برای هموگلوبین دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت. این یافته می‌تواند دلیل بر صحت روش استفاده از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه باشد. در جدول ٤ برای هر آزمایش، بازه‌های پیشنهادی کیت‌های مربوطه نیز داده شده است. ولی اطلاعات کاملی از شرایط آزمایش و تعداد نمونه‌هایی که در محاسبه بازه‌های پیشنهادی بکار گرفته شده در دست نیست. متأسفانه گزارشات مربوط به بازه‌های مرجع سایر جوامع ایرانی نیز محدود است (۱). بهمین دلیل مقایسه آماری و تفسیر نتایج حاصل از این بررسی غیر ممکن و یا مشکل است. در عین حال مقایسه ظاهری در مورد بعضی از آزمایش‌ها تفاوت‌های بارزی را نشان می‌دهد. عوامل این تفاوت‌ها عمدتاً می‌تواند متفاوت بودن نوع نمونه، شرایط آزمایش و سایر مواردی که در مقدمه به آن اشاره شد، باشد. بطور مثال فراوانی و علاقه مردم کرمانشاه به مصرف روغن‌های حیوانی می‌تواند موجب بالا بودن بازهٔ

کلسترول در این افراد باشد. کمتر بودن بازهٔ کرآتینین، پروتئین تام، هموگلوبین و T_4 نسبت به بازه‌های پیشنهادی خارجی می‌تواند منشاء ژنتیکی و یا تغذیه‌ای داشته باشد.

از آنجا که آزمون T در تمام موارد بخصوص وقتی که تعداد نمونه‌ها نسبتاً بالا باشد از دقت کافی برخوردار نیست (۱۰) مقایسهٔ بین میانگین زنها و مردها با تعیین محدودهٔ اطمینان اختلاف میانگین‌ها نیز محاسبه شده است. بدین ترتیب میانگین مقدار اسیداوریک، ازت اوره خون (BUN)، فسفر، هموگلوبین و T_3-Uptake در مردان بیش از زنان بدست آمده است. این یافته با آنچه که در مراجع بیوشیمی بالینی (۱۱) گزارش شده مطابقت دارد. با افزایش سن، گلوکز، BUN، کلسترول، تری‌گلیسرید، کرآتینین و اسید اوریک افزایش، و T_4 و FTI کاهش می‌یابند (نتایج نشان داده نشده است). این نوع تغییرات نیز در سایر جوامع گزارش شده است (۱۱). گرچه این نتایج می‌تواند بعنوان بازه‌های مرجع مردم کرمانشاه و حتی ایران تلقی شود، ولی به همان دلایلی که در مقدمه و بیان موضوع اشاره شد تنها آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه می‌تواند با اطمینان از آنها بعنوان مرجع و آنهم برای برهه‌ای از زمان و تا زمانی که کیت‌ها و دستگاههای ذکر شده مورد استفاده قرار می‌گیرند استفاده نماید.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله مراتب تشکر خود را از همکاران بخش ریاضی دانشکده علوم دانشگاه رازی آقایان بهزاد منتظری، رضا کیهانی و داوود فزونی‌نژاد بخاطر مشورت‌های آماری و راهنمایی‌های لازم در نوشتن برنامه رایانه ابراز می‌داریم. از پرسنل بخش پذیرش و بیوشیمی آزمایشگاه مرکزی بخصوص خانم شعله شعاعی، آقایان جلال میرانی، بهرام جمیل‌پناه و غلامرضا شریعتمداری که در جمع‌آوری داده‌ها کمال همکاری را نموده‌اند قدردانی می‌شود. همچنین از معاونت و کمیته پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمانشاه که با تصویب این طرح بخشی از مخارج آنرا تأمین نمودند سپاسگزاری می‌گردد. از معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمانشاه بخاطر اجازه استفاده از داده‌های طرح سلامت عمومی نیز تشکر می‌شود.

Summary

Determination of Reference Ranges Using Medical Laboratory Data

H. Rahi, PhD[1]; A. Kiani, BS[2]

1. Assistant Professor of Biochemistry; Kermanshah University of Medical Sciences and Health Services, Kermanshah, Islamic Republic of Iran

2. Chemistry Chief Technician; Kermanshah University of Medical Sciences and Health Services, Kermanshah, Islamic Republic of Iran

In order to have reliable reference ranges and to minimize the effects of variables such as the procedure of specimen collection, geographical location, dietary habits, life style and possible errors during the performance of tests, it is recommended that each medical laboratory establish its own reference values. Idealy, the reference range should be determined by analysis of specimens from every or, from a random sample of the individuals in the population of interest. However, in terms of time and money, it is very expensive and impracticable to examine and apply the selection criteria to the entire poupulation and therefore a random selection of a subset of individuals is recommended. As an alternative, a number of methods have been suggested whereby the test results of individuals undergoing routine analysis can be used to establish reference values. These people are a pt to forma heterogenous sample; i.e. a mixture of two distributions, one, of healthy individuals and one, of sick individuals. For this reason and the fact that in our country almost all clinical laboratories are using reference ranges belonging to foreign sources, a special computer program was devised to analyse the data collected at Kermanshah Central Laboratory. A set of reference values for routine and special biochemical tests have been derived. This includes;

Glucose 55-119 mg/dl; BUN 6-20 mg/dl; Cholesterol 138-278 mg/dl; Triglyceride 57-156 mg/dl; Creatinine 0.45-1.2 mg/dl; Uric acid 2.8-7.1 mg/dl; Total Bilirubin 0.39-1.2 mg/dl; Direct Bilirubin 0.18-0.23 mg/dl; Calcium 8.5-10.4 mg/dl; Phosphorus 2.5-5.6 mg/dl; Sodium 138-143 mmol/L; Potassium 3.8-4.8 mmol/L; Iron 68-165 ug/dl; Hb 10.2-16.8 g/dl; Total Protein 6.6-7.1 g/dl; SGOT 9-27 U/L; SGPT 8-26 U/L; T_4 3.93-12.41 ug/dl; T_3-Uptake 23-32%; FTI 1.3-3.8%µg/dl; TSH 0.36-3.13 uIU/ml. This results were compared with the reference ranges established by kitmanufacturers. The results of glucose, cholesterol and Hb estimation have also been compared with the values calculated for a random samples selected by the Health Survey of Iran in Kermanshah province.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1995; 2(1): 1-11
Key Words: Biochemical reference ranges, Kermanshah

References

۱. وکیلی بهزاد، عمادحقی حسین و خواجویان محمدرضا: تلاشی در جهت شناخت مفهوم و ارزش مقادیر نرمال. ویژه‌نامه اولین کنگره بیوشیمی جمهوری اسلامی ایران، ۱۳۷۰، ص ۵۹.

2. Allain CC, Poon LS, *et al:* Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974; 20: 470-473.
3. Annino JS, Giese RW: Clinical chemistry. 4th ed. Boston, Little Brown 1976; pp 184-276.
4. Ballentine R: Treatment of Gaussian measurment data. In Brewer JM, Pesce AJ, Ashworth RB (eds): Experimental techniques in biochemistry. Prentice-Hall Inc, 1974; pp 10-31.
5. Bland M: An introduction to medical statistics. Oxford Medical Publications. 1987; pp 265-275.
6. Bermer JRW, Erviti V, Forman DT: Statistics, normal value and quality control. In Tietz NW (ed): Text book of clinical chemistry. Philadelphia, W.B.Saunders Co, 1980; pp 60-102
7. Casio Program Library (For Programable Calculator), Casio Co. Japan, pp 86-110.
8. Glantz SA Primer of biostatics. 2nd ed, London, McGraw-Hill Book Co., 1987; pp 196-230.
9. Haeckel R: The use of aldehyde dehydrogenase to determine H2O2-producing reaction. I. The determination of the uric acid concentration. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 101-107.
10. Harwood SJ, Cole GW: Reference values based on hospital admission laboratory data. *JAMA* 1978; 21: 240(3): 270-274.
11. Horvath BM: Multivariante estimation of reference ranges. *Am J Clin Pathol* 1978; 69(4): 398-404.
12. Husdan H, Rapoport A: Estimation of creatinine by the Jaffe reaction. A comparison of three methods. *Clin Chem* 1966; 14(3): 222-236.
13. Lorentz K.: Improved determination of serum calcium with 2-cresolphthalein complexone. *Clin Chim Acta* 1982; 126: 327-334.
14. Lutz RA, Fluckiger J: Kinetic determination of glucose with the GEMSAEC (ENI) centrifugal analyzer by the glucose dehydrogenase reaction and comparison with two commonly used procedures. *Clin Chem* 1975; 21: 1372-1377.
15. Milton JS, Tsokos JO: Statistical methods In Biological and health sciences, McGraw-Hill Book Co. 1983; pp 271-331.
16. Nakayama T: Factors that influence reference values. *Rinsho Byori* 1992; 40(8): 828-836.
17. Ohtsuki T: Distribution of serum lipoprotein levels: A non-parametric analysis. *Hiroshima J Med Sci* 1993; 42(2): 73-81.
18. Peters JRT, Westgard JO: Evaluation of methods. In Tietz NW (ed): Fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia W.B., Saunders Co., 1987; pp 225-237.
19. Peters T, Giovanniello TJ, Apt L, *et al:* A simple improved method for the determination of serum iron;II,J *Lab Clin Med* 1956; 48:280-288.

20. Pizazz Application Techniques, Inc. 1986; Serial Pz 61022011029.
21. Raphael SS: Lynch's Medical Laboratory Technology. 4th ed. W.B.Saunders Co., 1983; pp 43-62.
22. Reitman S, Frankel SA: colorometric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28: 56-63.
23. Robinson D, Bevan EA: Defining normality: Art or science?. *Methods Inf Med* 1993; 32(3): 225-228.
24. Sampson EJ, Baird MA, *et al:* A coupled-equilibrium method for measuring urea in serum; Optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference *method Clin Chem* 1980; 26: 816-826.
25. Solberg HE: Establishment and use of reference values, with an Introduction to statistical Techniques. In Tietz NW (ed).: Fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia, W.B. Sauders Co., 1987; pp 197-212.
26. Tietz NW: Logan NM: Reference Ranges. In Tietz NW (ed): Fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia, W.B Saunders Co., 1987; pp 944-969
27. Tsay JY, Chen IW, *et al:* A statistical method for determining normal ranges from laboratory data including values below the minimum detectable value. *Clin Chem* 1979; 25(12): 2011-2014.
28. Wallach J: Interpretation of diagnostic tests: A synopsis of laboratory medicine, 5th ed. London, Little Brown and Co., 1992; pp 3-29.