



مقاله پژوهشی

مقایسه روش مرجع رسوبی با روش جدید اندازه گیری مستقیم ظرفیت تام اشباع آهن (TIBC)

شادی شریفی^۱، محمد جوادزاده^۱، علی شرافت نیا^۲، رضا قربانی^۲، الهام شریفیان^۳، امیرحسین خوشی^{۴*}

^۱ - کارشناس علوم آزمایشگاهی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۲ - کارشناس علوم آزمایشگاهی، آزمایشگاه بیمارستان امام رضا (ع) بجنورد، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۳ - کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، عضو هیأت علمی گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی بجنورد، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۴ - دکتری تخصصی بیوشیمی بالینی، عضو هیأت علمی گروه علوم مولکولی دانشکده پزشکی و مسئول فنی بخش بیوشیمی بیمارستان امام رضا (ع) بجنورد، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
 * نویسنده مسئول: امیرحسین خوشی، دکتری تخصصی بیوشیمی بالینی، عضو هیأت علمی گروه علوم مولکولی دانشکده پزشکی و مسئول فنی بخش بیوشیمی بیمارستان امام رضا (ع) بجنورد، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران. ایمیل: ah.khoshi@nkums.ac.ir

DOI: 10.29252/nkjmd-09046

چکیده

مقدمه: بررسی ظرفیت تام اشباع آهن (TIBC) از ارزیابی‌های مهم وضعیت آهن بدن بوده و روش مرجع رسوبی شیمیایی همراه با مرحله پیش آزمایش متداولترین روش سنجش می‌باشد. با توجه به رویکردهای تشخیصی جدید سنجش مستقیم TIBC، جهت ساده نمودن و کاهش زمان آزمایش، هدف از انجام مطالعه مقایسه روش جدید سنجش مستقیم TIBC با روش رسوبی از نظر دقت و صحت آزمایش بود.

روش کار: تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی ۲۵ نمونه سرم افراد برای هریک از سطوح پایین، طبیعی و بالای TIBC بوسیله روش‌های رسوبی و مستقیم TIBC آزمایش گردید. برای بررسی دقت و صحت آزمایش از سرم کنترل تجاری استفاده شد.

یافته‌ها: در ارزیابی سطوح مختلف TIBC نمونه‌های افراد، اختلاف معنی داری بین روشهای رسوبی و مستقیم مشاهده نگردید ($P = 0.25$, $P = 0.17$, $P = 0.34$) به ترتیب برای سطوح پایین، طبیعی و بالا؛ گرچه در روش رسوبی اختلاف بیشتری میان نتایج وجود داشت. در ارزیابی دقت درون-سنجی روش‌ها، میانگین و ضریب تغییرات نتایج به ترتیب (316.2 ± 19.4 و 305.9 ± 8.07 (%/۲/۶) و 327.4 ± 45.3 (%/۱۳/۸) و 325.8 ± 25.8 (%/۷/۹) بدست آمد. در آنالیز آماری صحت و دقت دو روش اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P = 0.53$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد، با توجه به صحت قابل قبول و عدم وجود اختلاف معنی دار میان روشهای رسوبی و مستقیم، اما بدلیل سهولت انجام آزمایش و پایین تر بودن انحراف معیار و ضریب تغییرات در ارزیابی دقت درون-سنجی و بین-سنجی، می‌توان روش مستقیم سنجش TIBC را جایگزین روش رسوبی نمود.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۳

واژگان کلیدی:

ظرفیت تام اشباع آهن (TIBC)

روش رسوبی شیمیایی

سنجش مستقیم

دقت

صحت

مقدمه

می‌کند. در این حالت تقریباً یک سوم ساختار آن از آهن اشباع می‌شود و برخی جایگاه‌های اتصال موجود در آن خالی می‌ماند که به آن ظرفیت خالی یا اتصال نیافته آهن (UIBC: Unbound Iron Binding Capacity) گفته می‌شود. به مجموع UIBC و آهن موجود در سرم، ظرفیت تام اتصال/ اشباع آهن (TIBC: Total Iron Binding Capacity) می‌گویند. مقدار TIBC (بر حسب $\mu\text{g/dl}$) را می‌توان از ضریب ۳ مقدار آهن سرم محاسبه کرده و تخمین زد [۱، ۲]. همچنین، با درصدگیری از نسبت مقدار آهن سرم به TIBC

آهن دارای نقش اساسی در تشکیل هموگلوبین می‌باشد. از هر ۴ گرم آهن طبیعی موجود در بدن، حدود ۶۵٪ در ساختار هموگلوبین و ۳٪ در میوگلوبین و میزان کمی نیز در آنزیم‌های درون سلولی یافت می‌شود. باقیمانده آهن بدن نیز در کبد، طحال و مغز استخوان به صورت فریتین و یا هموسیدرین ذخیره می‌گردد [۱]. تمام آهن سرم در داخل ساختار گلیکوپروتئینی بنام ترانسفرین قرار دارد و همواره در حال عبور از میان مجاری گوارشی، مغز استخوان و حالت‌های ذخیره‌ای آهن می‌باشد. ترانسفرین حدود ۵۰ تا ۷۰٪ آهن گردش خون را حمل

می‌توان درصد اشباع ترانسفرین را محاسبه نمود [۲]. لذا، اندازه گیری TIBC به عنوان یکی از پارامترهای مهم جهت برآورد میزان ترانسفرین و وضعیت آهن بدن توسط پزشکان درخواست می‌گردد [۱-۳]. به این منظور، جهت بررسی میزان آهن موجود در گردش خون که در ارتباط با متابولیسم آهن بدن می‌باشد، و همچنین جهت ارزیابی اختلالات بالینی آهن نظیر کم خونی فقر آهن و هموکروماتوز، علاوه بر آزمایشات خون شناسی، از اندازه گیری بیوشیمیایی پارامترهای آهن، ترانسفرین، TIBC، UIBC و فریتین استفاده می‌شود [۱-۳]. مواردی مانند درمان با استروژن‌ها، کم خونی فقر آهن، کم خونی‌های همولیتیک و بارداری سبب افزایش میزان ترانسفرین می‌شوند؛ درحالی‌که آسیب شدید کبدی، کم خونی مگالوبلاستیک، بیماری‌های کلیوی همراه با افزایش دفع پروتئین مانند سندرم نفروتیک، فاز حاد عفونت‌ها و واکنش‌های التهابی، سبب کاهش میزان ترانسفرین می‌شوند. از آنجایی که TIBC در ارتباط مستقیم با غلظت ترانسفرین خون می‌باشد، تمامی موارد فوق دارای اثرات مشابهی بر مقدار TIBC سرم می‌باشند [۲، ۳]. همانطور که اشاره شد، اندازه گیری TIBC یکی از چند روش ارزیابی وضعیت آهن بدن می‌باشد [۴]. در اندازه گیری TIBC رویکردهای مختلفی وجود دارد که یکی از متداول‌ترین آنها، استفاده از روش مرجع رسوب شیمیایی (Chemical precipitation reference method) همراه با انجام مرحله پیش آزمایش می‌باشد. برای این منظور از اضافه نمودن مقادیر کافی آهن به محیط واکنش جهت اتصال به مکان‌های خالی ترانسفرین جهت اشباع سازی آن استفاده می‌شود. پس از جذب Fe^{3+} مزاد توسط یک فاز جامد، نهایتاً سنجش کل آهن پیوند شده به ترانسفرین با همان روش معمول اندازه گیری آهن انجام می‌گیرد [۵، ۶]. علاوه بر این، روش‌های اندازه گیری مستقیم (Direct assay method) اندازه گیری TIBC نیز پیشنهاد شده‌اند که طی آن از اختلاف سیگنال جذب نوری حاصل از اتصال آهن به ماده کروموژن و متعاقباً آزاد شدن آهن از آن استفاده می‌شود [۷، ۸]. برخی مطالعات پیشنهاد داده‌اند که استفاده از اندازه گیری مستقیم TIBC می‌تواند ضمن راحتی، دقت آزمایش و مفید بودن آن برای کارکنان فنی آزمایشگاه، سبب کاهش مدت زمان آزمایش شود [۹]. اما به دلیل وجود اختلافات قابل توجه حین انجام کار در نتایج حاصل از روش‌های مستقیم و رسوبی، هدف از انجام این مطالعه، مقایسه دو روش فوق از نظر دقت (Precision) و صحت (Accuracy) آنالیز بیوشیمیایی مد نظر قرار گرفت.

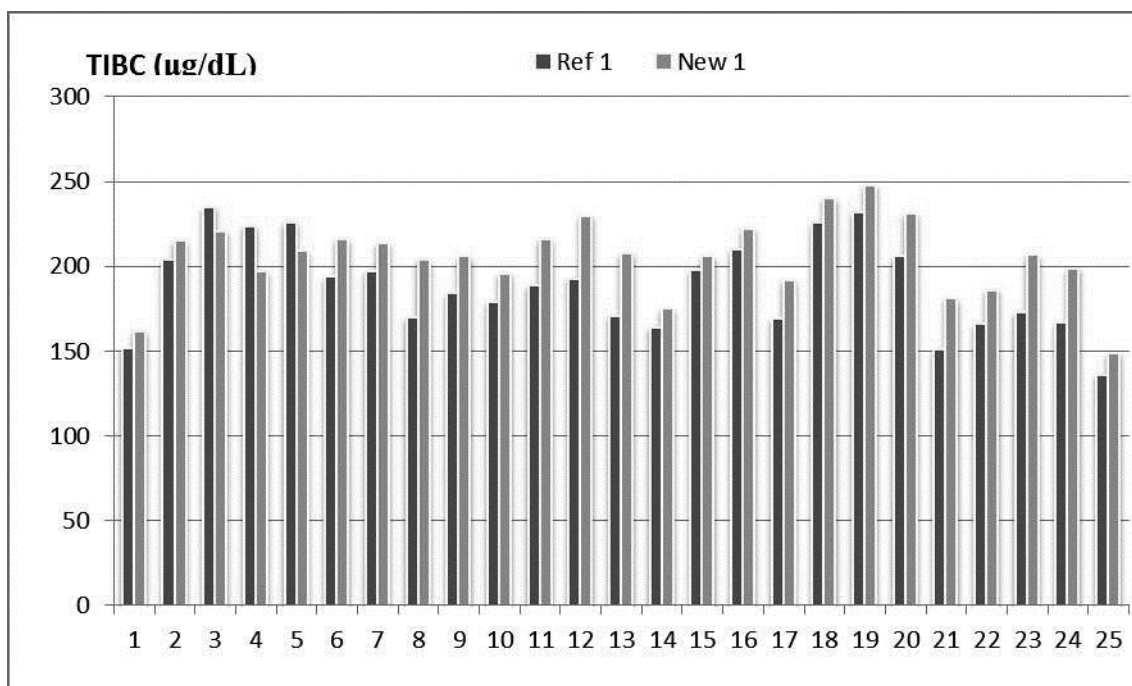
روش کار

با توجه به اینکه اغلب روش‌های بیوشیمیایی از نظر دقت (Precision) و صحت (Accuracy) به انجام حداقل ۲۰ بار تکرار به صورت درون سنجی (Within run; Intra-assay) و میان سنجی (Between run; Inter-assay) ارزیابی می‌شوند [۱۰]. بررسی دقت و صحت روش‌های آزمایش در این مطالعه با در نظر گرفتن جامعه آماری بزرگتر (در مورد نمونه‌های بیماران و نمونه‌های سرم کنترل) انجام گرفت. برای این منظور از نمونه‌های تصادفی افراد مراجعه کننده و یا بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستان امام رضا (ع) بجنورد در سه سطح ۱ (دارای مقادیر پایین)، سطح ۲ (دارای مقادیر طبیعی) و سطح ۳ (دارای مقادیر بالا) استفاده شد و اندازه گیری TIBC با هر دو روش رسوبی و

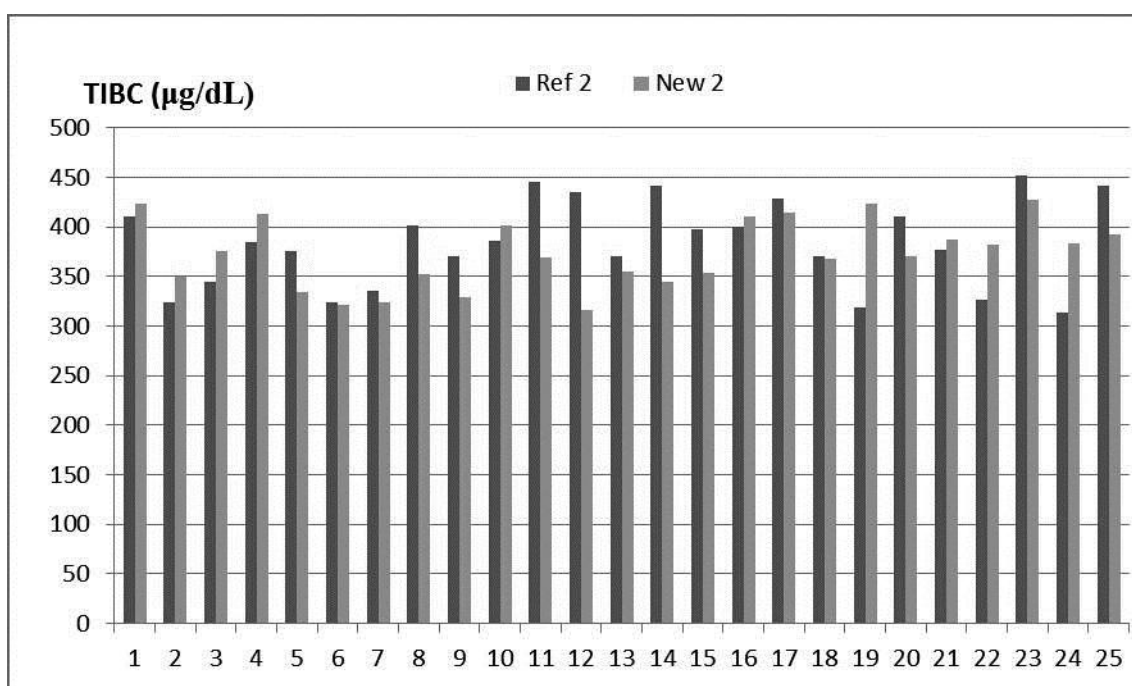
یافته‌ها

ارزیابی صحت و دقت نتایج اندازه گیری TIBC به دو روش رسوبی و مستقیم بر روی نمونه‌های سرم افراد مراجعه کننده نشان داد که از نظر آماری اختلاف معنی داری میان نتایج TIBC با دو روش مختلف وجود ندارد ($P = 0/37$)؛ با این وجود اختلاف میان نتایج حاصل از تکرار دوتایی روش رسوبی بر روی نمونه‌های افراد بیشتر از روش مستقیم بود. میانگین نتایج TIBC به روش‌های رسوبی و مستقیم در افراد

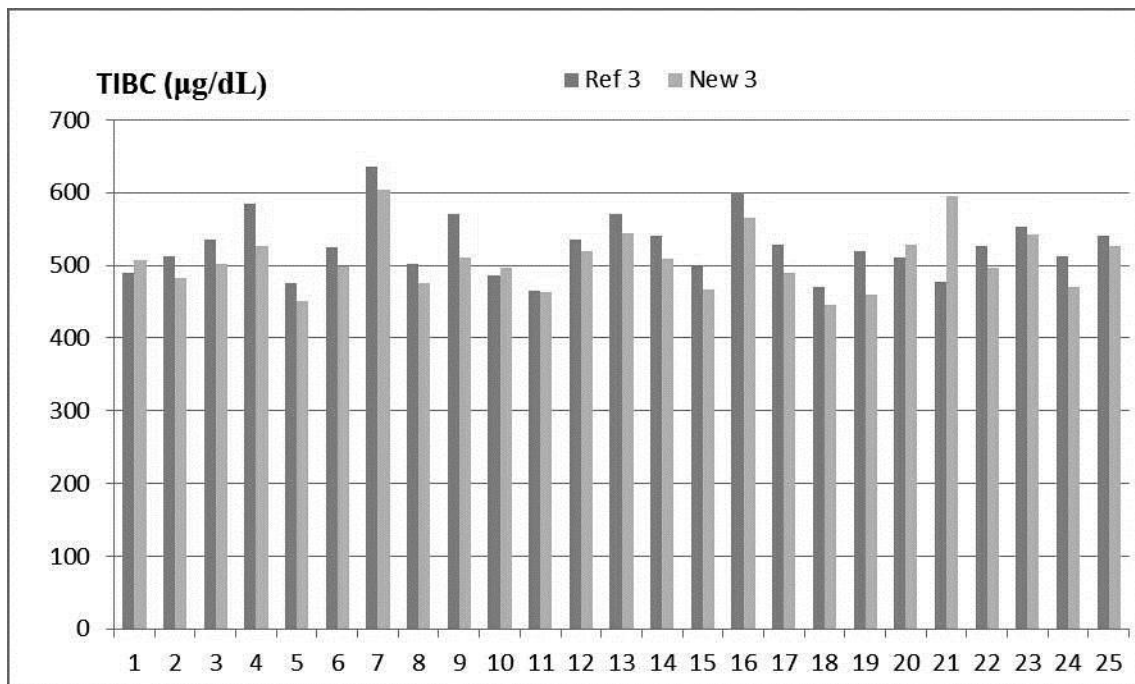
سطح ۱ (با TIBC پایین) (تصویر ۱) به ترتیب برابر با $27/2 \pm 188/6$ و $22/8 \pm 205/8$ حاصل شد ($P = 0/25$). همچنین، میانگین نتایج TIBC به روش‌های رسوبی و مستقیم در افراد سطح ۲ (با TIBC طبیعی) (تصویر ۲) به ترتیب برابر با $43/7 \pm 383/3$ و $34/5 \pm 372/8$ به دست آمد ($P = 0/17$). علاوه بر این، میانگین نتایج TIBC به روش‌های رسوبی و مستقیم در افراد سطح ۳ (با TIBC بالا) (تصویر ۳) به ترتیب برابر با $42/2 \pm 526/5$ و $41/4 \pm 506/8$ حاصل گردید ($P = 0/34$).



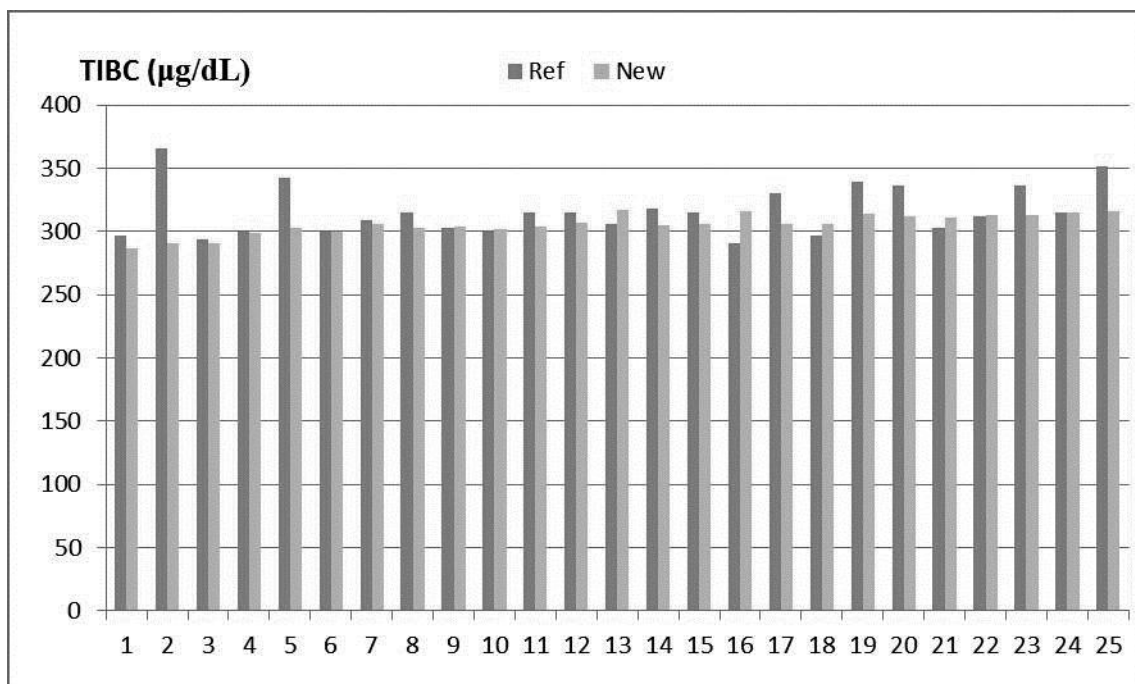
تصویر ۱: مقایسه میانگین نتایج TIBC به دو روش مرجع رسوبی (Ref) و جدید مستقیم (New) بر روی افراد سطح ۱ (با TIBC پایین)



تصویر ۲: مقایسه میانگین نتایج TIBC به دو روش مرجع رسوبی (Ref) و جدید مستقیم (New) بر روی افراد سطح ۲ (با TIBC طبیعی)



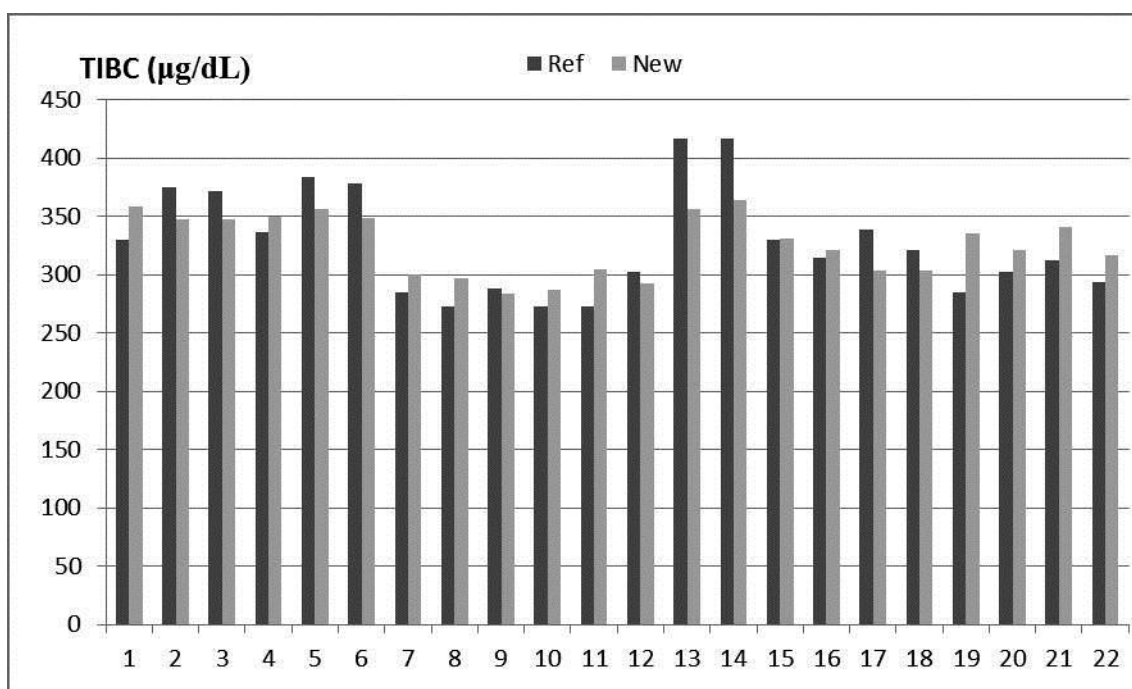
تصویر ۳: مقایسه میانگین نتایج TIBC به دو روش مرجع رسوبی (Ref) و جدید مستقیم (New) بر روی افراد سطح ۳ (با TIBC بالا)



تصویر ۴: مقایسه دقت درون سنجی نتایج TIBC به دو روش مرجع رسوبی (Ref) و جدید مستقیم (New) بر روی سرم کنترل تجاری

روش‌های رسوبی و مستقیم، میانگین و ضریب تغییرات نتایج به ترتیب $325/8 \pm 25/8$ (%/۷/۹) و $327/4 \pm 45/3$ (%/۱۳/۸) به دست آمد (تصویر ۵).

در ارزیابی دقت درون سنجی روش‌های رسوبی و مستقیم، میانگین و ضریب تغییرات نتایج به ترتیب $316/2 \pm 19/4$ (%/۶/۱) و $310/7 \pm 8/0/7$ (%/۲/۶) حاصل شد (تصویر ۴). همچنین، در ارزیابی دقت بین سنجی



تصویر ۵: مقایسه دقت میان سنجی نتایج TIBC به دو روش مرجع رسوبی (Ref) و جدید مستقیم (New) بر روی سرم کنترل تجاری

با توجه به میانگین بدست آمده و پیشنهادی سرم کنترل تجاری (میزان TIBC برابر با $287 \mu\text{g/dl}$) و همچنین میانگین‌های حاصل از تکرار آزمایشات بر روی سرم کنترل در آزمایشگاه (بترتیب $316/2$ و $305/9$ برای روش‌های رسوبی و مستقیم)، آنالیز درصد عدم درستی یا تورش (bias) انجام گرفت و درصد تورش در روش رسوبی شیمیایی $9/1\%$ و در روش مستقیم $5/9\%$ حاصل گردید. در آنالیز آماری دقت درون سنجی/بین سنجی و صحت دو روش اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P = 0/53$).

بحث

در این مطالعه به بررسی دقت و صحت روش مرجع (رسوبی شیمیایی) اندازه گیری TIBC و مقایسه آن با روش جدید اندازه گیری مستقیم آن پرداخته شد. نتایج کلی این مطالعه نشان داد از نظر آماری اختلاف معنی داری میان دو روش وجود ندارد، گرچه در ارزیابی دقت روشها، میزان انحراف از معیار (SD: Standard Deviation) و درصد ضریب تغییرات (CV: Coefficient of Variations) در روش اندازه گیری مستقیم کمتر از روش رسوبی مشاهده شد؛ همچنین در ارزیابی صحت روشها، نزدیکی نتایج حاصل از روش اندازه گیری مستقیم به مقدار واقعی بیش از روش رسوبی بود. همانطور که اشاره شد، بیش از 70% آهن غیرهمی موجود در گردش خون در اتصال با ترانسفرین است و TIBC ارتباط بسیاری با مقادیر ترانسفرین دارد [۲]. در حالت معمول، حدود 30% از جایگاه‌های اتصال آهن در ترانسفرین اشباع می‌شود، و تغییر در نسبت آهن سرم به TIBC (که به آن درصد اشباع ترانسفرین می‌گویند)، بیانگر تغییر در میزان ذخیره آهن بدن می‌باشد [۴، ۱۱]. از نظر بالینی، اندازه گیری TIBC در تشخیص کم خونی فقر آهن اهمیت زیادی دارد [۱۲]. همچنین تعیین

مقدار TIBC به عنوان یک آزمایش غربالگری در موارد مشکوک به هموکروماتوز ارثی (حالت ژنتیکی مزمن اضافه بار آهن) و دیگر بیماری‌های جدی درمان نشده کاربرد دارد [۱۳-۱۵]. روش آزمایشگاهی رایج برای اندازه گیری TIBC روش رسوبی می‌باشد که به عنوان روش مرجع سنجش این پارامتر نیز شناخته شده است. برای این منظور از اضافه نمودن مقادیر کافی آهن به محیط واکنش جهت اتصال به مکان‌های خالی ترانسفرین جهت اشباع سازی آن استفاده می‌شود. سپس، Fe^{3+} مازاد طی جذب توسط یک فاز جامد (پودر کربنات منیزیم) و متعاقباً یا استفاده از سانتریفیوژ رسوب داده می‌شود و در نهایت کل آهن پیوند شده به ترانسفرین با همان روش معمول اندازه گیری آهن انجام می‌گیرد [۱، ۳، ۴]. در ادامه، ابتدا جداسازی آهن از ترانسفرین بواسطه کاهش pH محیط واکنش انجام شده، سپس در حضور اسید آسکوربیک آهن Fe^{3+} به Fe^{2+} احیاء می‌گردد و با ماده کروموزن باتوفنانترولین یا فروزین ایجاد کمپلکس رنگی می‌نماید [۱، ۴]. دیگر روش‌های رسوبی و یا مواد جاذب که بواسطه آن‌ها مازاد آهن برداشته می‌شود شامل استفاده از ستون‌های کوچک آلومینا (alumina minicolumn) [۱۶]، رزین‌های تعویض یون (Ion Exchange Resin) [۱۷]، و ذرات حاوی آلومینا پاسخ دهنده به مغناطیس (Magnetic Responsive Alumina-containing particles) [۱۸] می‌باشند. رویکرد دیگر بررسی وضعیت آهن، استفاده از ظرفیت اتصال آهن متصل نشده (UIBC) می‌باشد. در این روش، مقدار ثابت آهن در pH خنثی به نمونه اضافه شده و برداشت آهن بواسطه جایگاه‌های اتصال اشغال نشده توسط یک روش اندازه گیری آهن سرم مورد سنجش قرار می‌گیرد [۴].

دقت درون سنجی (Within Run) و دقت بین سنجی (Between Run) روش‌های رسوبی و مستقیم اندازه گیری TIBC از سرم کنترل تجاری استفاده شد و نتایج نشان داد که از نظر آماری اختلاف معنی داری بین دو روش وجود ندارد ($P = 0/53$). با این وجود، در بررسی دقت درون سنجی ضریب تغییرات در روش رسوبی $0/61$ و در روش مستقیم $0/26$ به دست آمد. همچنین در بررسی دقت بین سنجی ضریب تغییرات در روش رسوبی $0/13$ و در روش مستقیم $0/79$ حاصل شد. این نتایج نشان می‌دهد که با وجود عدم اختلاف معنی دار آماری میان این روشها، روش مستقیم اندازه گیری TIBC دقت بالاتری در مقایسه با روش رسوبی آن دارد. علت این امر احتمالاً از مرحله پیش آزمایش، شامل اضافه کردن دستی آهن و متعاقباً پودر کربنات منیزیم به نمونه سرم، منشاء می‌گیرد که خطای تصادفی در سنجش مقادیر واقعی TIBC ایجاد می‌کنند. در روش مستقیم، علاوه بر اینکه خطای احتمالی ناشی از مرحله پیش آزمایش وجود ندارد، همچنین از نظر زمانی سریعتر و از نظر سهولت انجام کار برای پرسنل آزمایشگاه راحت‌تر از روش رسوبی می‌باشد. این امر منجر می‌شود تا ضمن دقیق‌تر بودن این روش، نزدیکی نتایج آزمایشات به مقدار واقعی، یا همان صحت آزمایش، نیز افزایش یابد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج مطالعه که بیانگر صحت قابل قبول و عدم وجود اختلاف معنی دار آماری میان دو روش مرجع و مستقیم می‌باشد، به دلیل پایین‌تر بودن انحراف معیار و ضریب تغییرات در ارزیابی دقت درون سنجی و بین سنجی و همچنین بالاتر بودن سرعت و سهولت انجام آزمایش به روش مستقیم، می‌توان این روش اندازه گیری TIBC را جایگزین روش رسوبی قدیمی نمود.

سپاسگزاری

بودجه مطالعه حاضر (کد طرح ۹۴/پ/۹۰۹) توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی تأمین شد. بدینوسیله نویسندگان این مطالعه مراتب قدردانی خود را از این معاونت، بویژه جناب آقای دکتر علیرضا گلشن، جناب آقای دکتر شهریار احمد پور و جناب آقای مهندس محمد امین یونسی هروی، دارند.

Gambino و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که در مقایسه با TIBC، وجود روش‌های اندازه گیری UIBC معمولاً عدم درستی (bias) قابل توجهی را نشان می‌دهند؛ بطوریکه $10-7$ عدم درستی (Negative bias) با روش مرجع (استفاده از کربنات منیزیم) نشان داده شده است [۱۹]. گرچه دلیل این عدم درستی به طور کامل مشخص نشده است، اما به نظر می‌رسد یکی از دلایل احتمالی، استفاده از محلول آبی اشباع کننده/ کالیبراسیون اندازه گیری شده در مقایسه با استفاده از کالبراتور مبتنی بر سرم باشد [۱۹، ۲۰]. میزان عدم درستی در این مطالعه برای روش رسوبی و روش مستقیم به ترتیب $9/1$ و $5/9$ حاصل گردید. این امر نیز نشان می‌دهد در روش رسوبی به دلیل فاز پیش از آزمایش احتمال خطای آنالیتیکال در مجموع افزایش می‌یابد. Beily و همکاران در مطالعه‌ای پیشنهاد دادند که راهکار دیگر ارزیابی وضعیت آهن، اندازه گیری مستقیم ترانسفرین خون با تکنیک‌های سنجش ایمنی (Immunoassay) می‌باشد که از طریق آن می‌توان میزان TIBC را محاسبه نمود [۲۰]. یا این حال، روش‌های مبتنی بر کمپلکس ایمونولوژیک از نظر هزینه بسیار بالاتر از روش‌های بیوشیمیایی می‌باشند و درخواست اندازه گیری مستقیم ترانسفرین رایج نیست. Siek و همکاران پیشنهاد داده‌اند که استفاده از اندازه گیری مستقیم TIBC می‌تواند ضمن راحتی، دقت آزمایش و مفید بودن آن برای کارکنان فنی آزمایشگاه، سبب کاهش مدت زمان آزمایش شود [۹]. مشابه مطالعه Siek، در مطالعه حاضر نتایج روش اندازه گیری مستقیم TIBC از نظر میزان عدم دقت درون سنجی (برابر با $2/6$)، عدم دقت بین سنجی (برابر با $7/9$) و عدم صحت ($5/9$) قابل قبول بودند. با توجه به نوسانات مشاهده شده در نتایج اندازه گیری TIBC به روش رسوبی و بعضاً عدم تطابق نتایج TIBC با شرایط بالینی بیماران، در مطالعه حاضر به ارزیابی دقت و صحت این روش و مقایسه آن با روش جدید اندازه گیری مستقیم TIBC پرداخته شد. مقایسه میانگین نتایج آزمایشات با تکرار دوتایی بر روی گروه‌های مطالعه بیماران دارای مقادیر پایین (سطح ۱)، مقادیر طبیعی (سطح ۲) و مقادیر بالا (سطح ۳) نشان داد که از نظر آماری اختلاف معنی داری میان دو روش رسوبی و مستقیم اندازه گیری TIBC وجود ندارد ($P = 0/37$). با این حال، در مقایسه تکرار آزمایشات با هر کدام از روش‌های رسوبی و مستقیم، اختلاف نتایج برای هریک از افراد در روش اندازه گیری مستقیم کمتر مشاهده شد. در ارزیابی صحت آزمایش،

References

1. Schnell ZB, Van Leeuwen AM, Kranpitz TR. Davis's Comprehensive Handbook of Laboratory and Diagnostic Tests--with Nursing Implications. 6th ed: FA Davis; 2015.
2. Burtis CA, Bruns DE. Tietz fundamental of clinical chemistry and molecular diagnostics. 7 ed: Saunders 2014.
3. McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods E-Book. 22nd ed: Saunders; 2011.
4. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 5 ed. Philadelphia: WB Saunders; 2012.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Determination of serum iron and total iron binding capacity; proposed standard. NCCLS document H17-P. Wayne, PA: NCCLS; 1990.
6. Ramsay WNM. The determination of the total iron-binding capacity of serum. Clin Chim Acta. 1957;2(3):221-6. DOI: 10.1016/0009-8981(57)90106-7
7. Yamanishi H, Kimura S, Iyama S, Yamaguchi Y, Yanagihara T. Fully automated measurement of total iron-binding capacity in serum. Clin Chem. 1997;43(12):2413-7. PMID: 9439463
8. Yue Y, Arana C, Staples M. Development of a fully automated TIBC method for the Dimension (R) clinical chemistry system. Clin Chem. 2000;46(6):A146-A.
9. Siek G, Lawlor J, Pelczar D, Sane M, Musto J. Direct serum total iron-binding capacity assay suitable for automated analyzers. Clin Chem. 2002;48(1):161-6. PMID: 11751551
10. Konieczka P, Namiesnik J. Quality assurance and quality control in the analytical chemical laboratory: a practical approach: CRC Press; 2016.

11. Huebers HA, Finch CA. The physiology of transferrin and transferrin receptors. *Physiol Rev.* 1987;67(2):520-82. DOI: [10.1152/physrev.1987.67.2.520](https://doi.org/10.1152/physrev.1987.67.2.520) PMID: 3550839
12. Prevention CfDCA. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep.* 1998;47(RR-3):1-29. PMID: 9563847
13. Lyon E, Frank EL. Hereditary hemochromatosis since discovery of the HFE gene. *Clin Chem.* 2001;47(7):1147-56. PMID: 11427444
14. Powell LW, George DK, McDonnell SM, Kowdley KV. Diagnosis of hemochromatosis. *Ann Intern Med.* 1998;129(11):925-31. PMID: 9867744
15. Phatak PD, Sham RL, Raubertas RF, Dunnigan K, O'Leary MT, Braggins C, et al. Prevalence of hereditary hemochromatosis in 16031 primary care patients. *Ann Intern Med.* 1998;129(11):954-61. PMID: 9867748
16. Starr RT. Use of an alumina column in estimating total iron-binding capacity. *Clin Chem.* 1980;26(1):156-8. PMID: 7356553
17. Henry RJ. *Clinical chemistry, principles and technics.* 1 ed. New York: Harper & Row; 1964.
18. Siek G, Lawlor J, Pelczar D, Sane R. Development and performance characteristics of a magnetic separation based TIBC. *Clin Chem.* 1999;45:A167-8.
19. Gambino R, Desvarieux E, Orth M, Matan H, Ackattupathil T, Lijoi E, et al. The relation between chemically measured total iron-binding capacity concentrations and immunologically measured transferrin concentrations in human serum. *Clin Chem.* 1997;43(12):2408-12. PMID: 9439462
20. Beilby J, Olynyk J, Ching S, Prins A, Swanson N, Reed W, et al. Transferrin index: an alternative method for calculating the iron saturation of transferrin. *Clin Chem.* 1992;38(10):2078-81. PMID: 1394993



Research Article

Comparison of Precipitation Reference Method with New Direct Assay of Total Iron Binding Capacity (TIBC)

Shadi Sharifi, B.Sc.¹, Mohammad Javadzadeh, B.Sc.¹, Ali Sherafatnia, B.Sc.², Reza Ghorbani, B.Sc.², Elham Sharifian, M.Sc.³, Amirhosein Khoshi, Ph.D.^{4*}

¹ Clinical Laboratory B.Sc., Student Research Committee, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

² Clinical Laboratory of Imam Reza Hospital, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

³ Epidemiology M.Sc., Department of Social Medicine, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁴ Assistant professor of Clinical Biochemistry, Ph.D., Department of Molecular Sciences, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

* **Corresponding author:** Amirhosein Khoshi, Assistant Professor, Department of Molecular Sciences, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran. E-mail: ah.khoshi@nkums.ac.ir

DOI: [10.29252/nkjmd-09046](https://doi.org/10.29252/nkjmd-09046)

How to Cite this Article:

Sharifi S, Javadzadeh M, Sherafatnia A, Ghorbani, Sharifian E, Khoshi A. Comparison of Precipitation Reference Method with New Direct Assay of Total Iron Binding Capacity (TIBC). JNKUMS. 2018; 9 (4):34-41

URL: <http://journal.nkums.ac.ir/article-1-1311-fa.html>

Received: 05 Feb 2017

Accepted: 24 Dec 2017

Keywords:

Total Iron Binding Capacity (TIBC)

Chemical precipitation

Direct assay

Precision

Accuracy

Abstract

Introduction: Total iron binding capacity (TIBC) assay is important investigation of body iron state. The most common method is chemical-precipitation reference method with pre-analysis step. New diagnostic approaches for direct measurement of TIBC have been proposed to streamline and reducing the time of analysis. The aim of study was to compare of accuracy and precision of TIBC direct assay with precipitation method.

Methods: Under standard laboratory condition, twenty-five individuals' serum samples for each of the low, normal and high TIBC levels were analyzed by both precipitation and direct methods. To investigate of analytical accuracy and precision, the assayed-commercial serum-control was used.

Results: There were not significant difference between different serum-TIBC levels which analyzed by precipitation and direct methods ($P=0.25$, $P=0.17$ and $P=0.34$ for low, normal and high levels, respectively); however, there were more differences between serum-TIBC that analyzed by precipitation method. To investigate of within-run precision, the mean and CV% in precipitation and direct methods were 316.2 ± 19.4 (6.1%) and 305.9 ± 8.07 (2.6%), respectively. In addition, to evaluate of between-run precision, the mean and CV% were 327.4 ± 45.3 (13.8%) and 325.8 ± 25.8 (7.9%) for precipitation and direct methods, respectively. However, there were not significant differences in accuracy and precision between two methods ($P=0.53$).

Conclusions: The results showed that despite of allowable accuracy and no significant differences between precipitation and direct methods of TIBC measurement, because of lower standard deviation and CV%, and also simplicity of direct assay, it is suggested that the direct assay can be replace instead of precipitation method.