

Ferritin Ölçümü için İmmunoturbidimetrik ve Elektrokemilüminesans Yöntemler

Immunoturbidimetric and Electrochemiluminescence Methods for Ferritin Measurement

Fatma Demet İnce*

Hamit Yaşar Ellidağ
Defne Özbek*****

**Merve Zeytinli*
Elif Merve Arı***

Ramazan Avcı*

* Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

** Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Antalya, Türkiye

*** Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi, Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

Başvuru Tarihi: 14 Şubat 2016

Kabul Tarihi: 18 Mart 2016

ÖZET

Amaç: Serum ferritin ölçümü, demir depolarının izlenmesi için güvenilir ve non-invaziv bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Ferritin ölçümü için birçok farklı yöntem bulunmaktadır. Bununla birlikte, daha az maliyet ile diğer parametrelerin eş zamanlı ölçüm olanağına sahip immunoturbidimetrik yöntem, elektrokemilüminesans yöntemine göre daha kullanışlıdır. Bu nedenle, immunoturbidimetrik yöntem ile elektrokemilüminesans yöntem sonuçlarının karşılaştırılmasını amaçladık.

Materyal ve Metod: 109 kan örneği immünoturbidimetrik ve elektrokemilüminesans yöntem ile analiz edildi. Karşılaştırma çalışması, Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü EP9-A3 protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. İki yöntem arasındaki bias kabul edilebilir sistematik hata sınırına göre değerlendirildi. Referans değerlere göre tanısal uyum Kappa testi ile analiz edildi.

Bulgular: İmmünoturbidimetrik ve elektrokemilüminesans yöntem sonuçları arasında güçlü pozitif korelasyon ($r=0.999$; $p<0.001$) saptanmasına rağmen, iki yöntem sonuçları arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0.001$). Bu fark, değişik kaynaklardan elde edilen biasa göre kabul edilebilir sınırlar içinde idi. Referans değerlere göre tanılarının uyumu kadınlarda iyi (Kappa değeri, 0.62; $p<0.001$); erkeklerde (Kappa value, 0.28; $p<0.001$) azdı.

Sonuç: İmmünoturbidimetrik ile elektrokemilüminesans yöntem sonuçlarında analitik uyum olmasına karşın, yüksek ferritin düzeyleri varlığında fark oluşabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Üretici tarafından verilen referans aralıklar yerine laboratuvarın kendi popülasyonuna uygun referans aralığın belirlenmesi tanısal uyumun derecesini arttırabilir. Böylece elektrokemilüminesans yöntem yerine pratik avantajları olan immünoturbidimetrik yöntem tercih edilebilir.

Anahtar sözcükler: Ferritin, kemilüminesans analiz, turbidimetri

ABSTRACT

Purpose: The measurement of serum ferritin is used as a reliable and noninvasive method for the monitoring of iron stores. There are many different methods for the ferritin measurement. However, the immunoturbidimetric method that having the less cost and possibility of the simultaneously ferritin measurement with other parameters is more useful than electrochemiluminescent method. Thus, we aimed to compare the results of immunoturbidimetric and electrochemiluminescent method.

Material and Methods: The 109 blood samples were analyzed by immunoturbidimetric and electrochemiluminescent method. The comparison study was performed according to the Clinical Laboratory Standards Institute EP9-A3 protocol. The bias between two methods was evaluated according to acceptable systematic error limit. Diagnostic agreement according to the reference value was analyzed by the Kappa test.

Results: Although a strong positive correlation ($r=0.999$; $p<0.001$) was detected between the results of immunoturbidimetric and electrochemiluminescent method, it was found a significant difference between the results of two methods ($p<0.001$). This difference was within the acceptable limits according to the bias obtained from various sources. The agreement of diagnostic according to reference values was good (Kappa value, 0.62; $p<0.001$) in women; fair (Kappa value, 0.28; $p<0.001$) in men.

Conclusions: Although there was analytical agreement between immunoturbidimetric and electrochemiluminescence method, it should be considered that the difference may occur at high ferritin levels. It can increase the degree of diagnostic agreement determining the appropriate reference intervals for laboratory's population instead of reference intervals provided by the manufacturer. So, immunoturbidimetric method which having practical advantages may be preferred instead of electrochemiluminescence method.

Keywords: Ferritin, chemiluminescent assay, turbidimetry

GİRİŞ

Ferritin, "Apoferritin" adı verilen protein bir kılıf ve Fe^{+3} depolayan kristaloid kaviteden oluşan, suda çözünebilir vücut demir depoları ile ilişkili bir proteindir (1,2). Bu nedenle serum ferritin düzey ölçümü, dolaylı olarak vücuttaki demir depolarının gösterilmesinde güvenilir ve non invaziv bir yöntem olarak kullanılmaktadır (3,4). Serum ferritin düzey ölçümü, sıklıkla demir eksikliği veya aşırı demir yüklenmesini değerlendirmek amacıyla istenir. Serum ferritin düzeyi ölçümü için immunotürbidimetrik assay, enzim linked immunoassay (ELISA), elektrokemilüminesans (ECLIA), immunokemilüminesans, radyoimmunoassay (RIA), immunoradyometrik assay (IRMA) ve enzim immunoassay (EIA) gibi yöntemler bulunmakla birlikte henüz bir referans yöntem tanımlanmamıştır. Bu nedenle klinik açıdan önemli bir parametre olan ferritin ölçümü, cihaz ve yöntemler arasındaki farklılıklar nedeniyle hasta takibinde ciddi sorunlar yaratabilmektedir.

İmmunoassay yöntemler, dalak veya karaciğer ferritinine karşı oluşturulan farklı antikorları kullanmaktadır. Ferritinin değişken yapısından dolayı, kullanılan farklı antikorlar ferritinin tüm formları ile eşit reaksiyon vermeyebilir. Ayrıca yöntemler arasında kullanılan kalibratörler ve referans değerlerinde farklılıklar bulunmaktadır (5).

Laboratuvarımızda serum ferritin düzeyleri immunotürbidimetrik yöntem ile demir eksikliği anemisinde birlikte değerlendirilen serum demir düzeyi ve ansatüre demir bağlama kapasitesi gibi parametrelerle birlikte, aynı cihazda ve aynı numunede ölçülmektedir. Bu durum klinik yorumu kolaylaştırmakta, daha az numune ve tek tüp sayesinde hasta memnuniyetini artırmakta, hızlı sonuç alınmakta ve diğer yöntemlere göre daha uygun maliyet sağlamaktadır. Bununla birlikte immunotürbidimetrik yöntem bu avantajlara sahip olmayan ECLIA yöntemine göre, daha dar analitik aralığa ve yüksek tespit sınırına sahiptir. Çalışmamızın amacı,

immünotürbidimetrik yöntem ile elde edilen sonuçlarla, ECLIA yöntem sonuçları arasında fark (bias) olup olmadığını ve fark var ise kabul edilebilir sınırlar içerisinde bulunup bulunmadığını ve klinik uyumunu saptamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemiz laboratuvarına başvuran 18-68 yaş arasında olan 66 kadın ve 43 erkek toplam 109 hastanın serum ferritin düzeyleri iki ayrı yöntemle karşılaştırıldı. Hastalar rastgele seçildi; karaciğer hastalığı, malignite veya inflamasyon tanılarına sahip değildi ve demir takviyesi almıyordu. Bu çalışma için, hastaların hiçbirinden ekstra örnek alınmadı, bunun yerine, rutin kan örneklerinden kalan serum kullanıldı. Ayrıca gönüllülerden yazılı ve imzalı onam formu elde edildi.

Karşılaştırma çalışması, Klinik Laboratuar Standartları Enstitüsü (CLSI) EP9-A3 protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi (6). Hastaların kan örnekleri farklı günlerde toplandı. Jelli vakumlu tüplere (Serum Separator Tubes, BD Vacutainer, UK, Ireland) toplanan kan örnekleri 10 dakika boyunca 1500 g' de santrifüj edildi ve serum ayrıldı. AU5800 (Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA) cihazında ferritin ölçümü yapılan serumlar 2 saat içinde Cobas E601 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazında da analiz edildi.

AU5800 (Beckman Coulter) yöntemi

Anti-ferritin reaktifi, poliklonal tavşan anti-ferritin antikor ile kaplanmış aynı büyüklükteki polistiren lateks parçacıkların bir süspansiyonudur. Ferritin içeren serum, anti-ferritin reaktifi ile karıştırıldığında bir aglütinasyon meydana gelir. Oluşan absorbans, 660 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür ve serum ferritin düzeyleri ile doğru orantılıdır.

Lateks aglütinasyon reaksiyonlu immünotürbidimetrik yöntem kullanarak analiz yapan AU5800 cihazında referans aralık kadınlarda 10-158 $\mu\text{g/L}$, erkeklerde 16-243 $\mu\text{g/L}$; ölçüm aralığı 8-450 $\mu\text{g/L}$ dir. AU5800 kalibratörü, 3.

Uluslararası (IS) Ulusal Biyolojik Standartlar ve Kontroller Enstitüsü (NIBSC) 94/572 (rekombinant insan ferritin)'ye göre standardize edilmiştir.

Cobas E601 (Roche Diagnostic) yöntemi

Serumdaki ferritin ile reaktif içindeki biyotinli monoklonal fare anti-ferritin antikor ve rutenyum ile işaretlenmiş monoklonal fare anti-ferritin antikor bir sandviç kompleks oluşturur. Streptavidin-kaplı mikropartiküller eklendikten sonra biyotin ile streptavidinin etkileşimi ile kompleks katı faza bağlanmış hale gelir. Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyinde manyetik olarak tutuldukları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Daha sonra bağlanmamış maddeler yıkama ile uzaklaştırılır. Elektrod üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonuna neden olup, bu bir foton sayıcı (photomultiplier) ile ölçülür.

ECLIA yöntemi ile analiz yapan Cobas E601 cihazında ferritin kiti için referans aralık kadınlarda 13-150 $\mu\text{g/L}$, erkeklerde 30-400 $\mu\text{g/L}$; ölçüm aralığı 0.5-2000 $\mu\text{g/L}$ dir. Cobas E601 kalibratörü 1. IS NIBSC 80/602 (insan karaciğer ferritin)'ye göre standardize edilmiştir.

Kesinlik çalışması CLSI EP15-A3 protokolüne göre yapıldı (7). Her bir cihaz için iki düzey kontrol ölçümü 3 farklı günde 5'er kez tekrarlandı. Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi kesinlik, varyasyon katsayısı (CV) olarak hesaplandı.

Referans aralıkları transferi CLSI C28-A3 protokolüne göre yapıldı (8). Bunun için, 40 sağlıklı birey (20 kadın, 20 erkek) çalışmaya dahil edildi ve bunların ferritin düzeyleri ölçüldü. Sağlıklı bireyler rastgele seçildi ve demir eksikliği veya aşırı demir yükü, karaciğer hastalığı, kronik hastalık, malignite veya inflamasyon tanısına sahip değildi; demir veya vitamin takviyesi, oral kontraseptif kullanımı, sigara ve alkol tüketimi (haftada ikiden fazla) yoktu; serum demir, total demir bağlama, hemoglobin, hematokrit, prokalsitonin ve C-reaktif protein değerleri yaş ve cinsiyete göre normal idi.

Total hata iki bileşene sahiptir: Sistematik hata (Bias) ve Rastgele hata (İmpresizyon). Uygun bir hata bütçesinin oluşturulması, laboratuvara doğruluk ve hassasiyetin kontrol edilmesine izin verir. Kabul edilebilir total hata bütçesinin %50'sini sistematik hatanın (bias), %25'ini ise rastgele hatanın oluşturduğu varsayıldı. İki yöntem arasındaki bias, farklı kaynaklardan alınan kabul edilebilir sistematik hata sınırlarına göre değerlendirildi.

İstatistiksel analizler; MedCalc (Mariakerke, Belgium) programıyla yapıldı. Yöntemler arası varyansın homojenliği Levene'nin testi ile değerlendirildi. Yöntemler arasındaki farkın anlamlılığı için Paired-Samples T testi; yöntemler arasındaki ilişki için Pearson korelasyon ve Deming Regresyon analizi; yöntemler arasındaki ölçümlerin farkı için ise Bland Altman analizi yapıldı. Bland-Altman grafiğinde "x" eksenine her iki yöntemin ortalaması, "y" eksenine iki yöntem arasındaki fark konuldu.

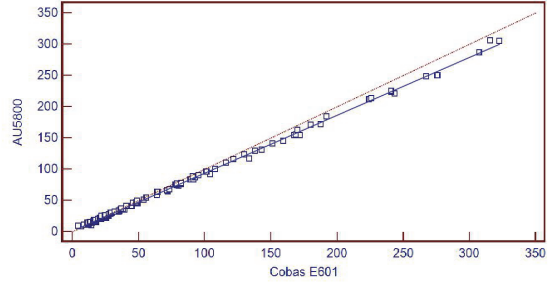
Referans değerlere göre tanısal uyum Kappa testi ile değerlendirildi. Üç farklı tanı demir eksikliği, normal demir düzeyi, demir yüklenmesi şeklinde belirlendi. 0-0.20, 0.21-0.40, 0.41-0.60, 0.61-0.80 ve 0.81-1.00 arasında Kappa değeri sırasıyla, kötü, az, orta, iyi ve çok iyi bir uyum olarak karakterize edildi (9).

BULGULAR

Her iki yöntem ile ölçülen analit konsantrasyonları yöntemlerin analitik ölçüm aralığı içindeydi. Laboratuvarımızda yaptığımız kesinlik çalışmasıyla üreticinin iddia ettiği varyasyon katsayısı doğrulandı (Tablo 1). Laboratuvar sağlıklı populasyonuna uygun referans aralık transferi yapıldı, 20 sağlıklı bireyden 2'den daha azının sonucu yöntemlerin referans aralık sınırını aşyordu.

Yöntem karşılaştırma sonuçları Tablo 2'de sunuldu. Yöntem varyansları homojendi ($p>0.05$). AU5800 ve Cobas E601 sonuçları arasında güçlü pozitif korelasyon tespit edilmesine rağmen ($r= 0.9994$; $p<0.001$), iki yöntem sonuçları arasında anlamlı fark

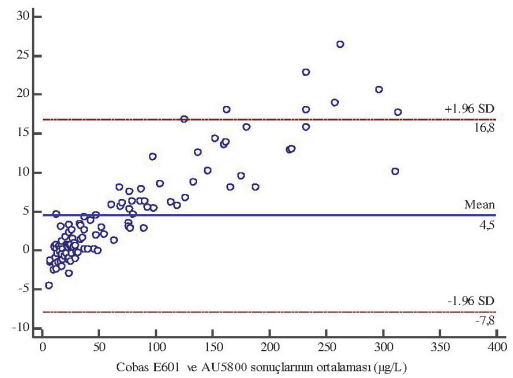
vardı ($p<0.001$). Deming regresyon grafiği ve analizi Şekil 1 ve Tablo 2'de gösterildi. İki yöntem arasında eğimin güven aralığı regresyon eşitliğine göre "1" i kapsamadığı için oransal bir bias, kesişimin güven aralığı "0" ı kapsamadığı için sabit bir bias bulunmaktaydı.



Şekil 1. AU5800 ve Cobas E601'e ait ferritin için Deming regresyon grafiği

Referans değerlere göre kadınlarda uyum iyi iken (Kappa value, 0.62; $p<0.001$) (Table 3). erkeklerde az uyumlu (Kappa value, 0.28; $p<0.001$) tespit edildi (Tablo 3 ve 4).

Bland-Altman grafiğinde, ferritin konsantrasyonları arttığında, iki yöntem arasındaki fark oransal olarak artmaktaydı. Farkların ortalaması ve standart sapması $4.5 \pm 6.3 \mu\text{g/L}$ ve 95% güven aralığı (-7.8-16.8) arasındaydı (Şekil 2). Bias, farklı karar düzeylerine (sırasıyla, 10 $\mu\text{g/L}$, 150 $\mu\text{g/L}$ ve 400 $\mu\text{g/L}$) göre %2.6, %6.5 ve %6.9 olarak bulundu. İki cihaz arasındaki bias, değişik kaynaklardan elde edilen kabul edilebilir sistematik hata (bias) sınırları içinde saptandı (Tablo 5).



Şekil 2. AU5800 ve Cobas E601 ferritin sonuçları arasındaki farkın Bland-Altman grafiğinde gösterilmesi. Sürekli kalın çizgi farkların ortalamasını; kesikli çizgi ise bunun %95 güven aralığını göstermektedir.

Tablo 1. Yöntem kesinliğinin değerlendirilmesi

		AU5800		Cobas E601	
		Laboratuvar	Üretici	Laboratuvar	Üretici
*CV% _r	Düzye 1	1.44	NA	2.37	2.90
	Düzye 2	1.38	NA	1.92	2.30
†CV% _i	Düzye 1	2.23	9.5	3.95	4.30
	Düzye 2	1.53	4.5	2.88	4.90

*CV%_r, tekrarlanabilirlik; †CV%_i, laboratuvar içi varyasyon katsayısı; NA, mevcut değil

Tablo 2. Yöntem karşılaştırma istatistikleri

	AU5800	Cobas E601
Ortalama, (95%CI) (µg/L)	71.3 (57.5-85.0)	75.8 (60.9-90.6)
Ortanca, (95%CI) (µg/L)	36 (27.1-63.1)	38.6 (27.6-65.0)
Min-Max (µg/L)	8-306	4.3-322.7
Varyans homojenitesi (Levene's test)		
F değeri (p value)	0.193 (0.471)	
Korelasyon analizi		
Pearson's korelasyon(r), (95%CI)	0.9994 (0.9991-0.9996)	
Regresyon analizi		
Deming regresyon eşitliği	y=0.987+0.928x	
Eğim (slope), (95%CI)	0.928 (0.915-0.941)	
Kesişim (intercept), (95%CI)	0.987 (0.253-1.720)	

Tablo 3. İki yöntem arasında kadınlarda tanısal uyum

Vücut demir durumu		AU5800			Toplam (n)
		Eksiklik	Normal	Yüklenme	
Cobas E601	Eksiklik	2	4	0	6
	Normal	1	50	0	51
	Yüklenme	0	3	6	9
Toplam (n)		3	57	6	66

Tablo 4. İki yöntem arasında erkeklerde tanısal uyum

Vücut demir durumu		AU5800			Toplam (n)
		Eksiklik	Normal	Yüklenme	
Cobas E601	Eksiklik	4	9	0	13
	Normal	0	27	3	30
	Yüklenme	0	0	0	0
Toplam (n)		4	36	3	43

Tablo 5. Farklı kaynaklardan elde edilen kabul edilebilir total hata ve bias değerleri

Organizasyon	Toplam hata	Sistemik hata (Bias)
*RCPA	± 4.0 µg/L <27 µg/L ± 15% >27 µg/L	± 2.0 µg/L <27 µg/L ± 7.5% >27 µg/L
†WLSH	4.5 µg/L ya da 30%	15%
‡CAP	3 SD ya da 16%	8%
§BV	17.3%	8.7%
°AAB	4.5 µg/L ya da 30%	15%
¶CFX	19.3%	9.7%

* RCPA, Royal College of Pathologist Australasia; †WLSH, Wisconsin State Laboratory of Hygiene; ‡CAP, College of American Pathologists; §BV, Biological Variation; °AAB, American Association of Bioanalysts; ¶CFX, Canadian Fixed Limits.

TARTIŞMA

Serum ferritin düzeyi, total demir deposunun güvenilir bir göstergesidir (10,11) ve özellikle düşüklüğü demir eksikliği için tanısaldır. Bu nedenle farklı ölçüm yöntemleri için tanı ve takip açısından sonuçlar karşılaştırılabilir olmalıdır.

Yaptığımız çalışmaya göre AU5800 ve Cobas E601 karşılaştırıldığında ferritin sonuçları arasında kuvvetli bir ilişki bulunmuştur. Yöntemler arasında güçlü bir ilişki için tek başına yeterli olmasa da korelasyon katsayısının (r) ≥ 0.975 veya r karenin (r^2) ≥ 0.95 olması tavsiye edilir (2). Veriler bu şartı sağlamaktadır. Ancak iki cihaz ferritin sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunmaktaydı ve bu farkın nispeten yüksek konsantrasyonda arttığı görülmekteydi (Şekil 2). Bu fark klinik anlamlılık açıdan değerlendirildi. RCPA verilerine göre; 10 $\mu\text{g/L}$ düzeyindeki bias (0.26 $\mu\text{g/L}$), kabul edilebilir bias (2 $\mu\text{g/L}$)'dan; 150 $\mu\text{g/L}$ ve 400 $\mu\text{g/L}$ düzeyindeki bias (sırasıyla, %6.7 ve %6.9) kabul edilebilir bias (%7.5)'dan düşüktü. Karşılaştırma sonucu elde edilen farklı konsantrasyondaki bias değerleri, WLSH, CAP, BV, AAB ve CFX tarafından önerilen kabul edilebilir bias değerlerinden (15%, 8%, 8,7%, 15%, 9,7%, sırasıyla) de düşük bulundu (Tablo 5). İki analizör sonuçları arasındaki anlamlı farkın, klinik açıdan kabul edilebilir karar sınırı içinde bulunması, birbirinin yerine kullanılabilir olduğunu göstermektedir.

Kotajima ve arkadaşları, klinik kimya analizörlerinde lateks aglütinasyon yöntemiyle yaptıkları analizde, geniş aralıkta doğru ferritin sonuçları elde edildiğini ve bu sayede demir eksikliği anemisi, siderozis ve malignite tanısında kullanılabilirliğini belirtmişlerdir. Ferritin sonuçlarının, EIA yöntemiyle korele olduğunu ve lateks aglütinasyon yönteminin klinik kimya analizörlerinde kullanılabilmesi ile ferritin demir eksikliği anemisinin diğer parametreleri ile eş zamanlı analizi yapılabildiğini ve bu sayede klinisyenlerin hızlı sonuç elde edebileceğini öne sürmüşlerdir (12).

Zhang ve arkadaşlarının immunoassay yöntemiyle çalışan iki analizörde (Architect i2000 ve Cobas E601) yapmış oldukları se-

rum ferritin düzeyi karşılaştırma çalışmasında; analitik performansı ve doğruluğu oldukça iyi olan iki yöntem arasında güçlü korelasyon ($r=0.99$) saptanmasına rağmen; hastaların serum ferritin takibinde genellikle aynı cihazın kullanılmasını önermişlerdir (13).

Dupuy ve arkadaşları serum ferritin düzeyi analizi için RIA, immunotürbidimetrik ve kemilüminesans yöntemlerini karşılaştırmışlar ve yapılan analizler sonucunda ferritin değerlerinin uyumlu olduğunu ve RIA yöntemine alternatif olabileceklerini belirtmişlerdir (14).

Ng ve arkadaşları, immunoradyometrik, radyoimmunoassay ve enzim immunoassay yöntemleri ile analiz edilen serum ferritin düzeyleri için; immunoradyometrik yöntem ile kabul edilebilir sonuçların elde edildiğini ve komplikasyonsuz demir eksikliği olan bireylerin sağlıklı bireylerden ayırımında kullanılabilirliğini öne sürmüşlerdir. Ancak ferritin konsantrasyonu 300 $\mu\text{g/L}$ üzerinde olan değerlerde sonuçlar arasında uyumsuzlukların olduğunu ve aşırı demir yüklenmesi izleminde karışıklığa sebep olabileceğini belirtmişlerdir (15).

Sonuç olarak, demir eksikliği tanı ve takibi için kullanılan immunotürbidimetrik yöntem ile ölçülen serum ferritin sonuçlarının ECLIA yöntemindeki sonuçlarla uyumlu olduğu ve birbirlerinin yerine kullanılabilirliği tespit edilirken, aşırı demir yüklenmesi takibinde yüksek değerlerdeki ferritin düzeyler için ($>200\mu\text{g/L}$) aynı yöntemlerin kullanılması önerilmektedir. Bununla birlikte immunotürbidimetrik yöntemle demir eksikliği anemisinin diğer parametreleri ile eş zamanlı ferritin analizi yapılabilmekte ve bu sayede klinisyenlerin hızlı sonuç elde edebilmesi sağlanmakta, klinik yorumu kolaylaştırmaktadır. Ayrıca daha az numune ve tek tüp sayesinde hasta memnuniyeti artmakta ve diğer yöntemlere göre daha uygun maliyetle analiz yapılabilmektedir.

Yöntemler referans aralığa göre değerlendirildiğinde, demir eksikliği tanısı için kadınlarda iyi bir uyum varken erkeklerde uyum azdı. Bunun sebebi, iki yöntem için kadın

referans aralık değerleri benzer iken erkek referans aralık üst sınırı farklı olmasıydı. Çalışmamızda referans aralık transferi yapılmasına rağmen, laboratuvarımızda kadın ve erkekte demir eksikliği ya da yüklenmesi için referans aralık belirlenmemiştir. Eğer bizim popülasyona ait referans aralığı oluşturulsaydı, iki yöntem tanılarını özellikle erkeklerde daha iyi uyumlu olabilirdi.

Demirin ve arkadaşlarının Türk yetişkinlerde yapmış olduğu referans aralık çalışmasına göre (16), erkeklerde ferritin referans aralığı 22.6-383 µg/L (Roche Diagnostics) olarak bulunmuştur. Çalışmamız verilerindeki tanısal uyum bu aralığa göre değerlendirildiğinde daha iyi bulundu (Kappa value, 0.51; p<0.001).

Çalışmamızın sınırlaması demir eksikliği veya demir yüklenmesi için klinik karar sınırı içindeki örnek sayısı az olmasıdır. Çünkü CLSI EP9-A3 yöntemin veya cihazın iddia ettiği analitik ölçüm aralığındaki konsantrasyonları içeren örneklerin karşılaştırılmasını önerir. Çalışmamızda her iki cihaz için, immunotürbidimetrik yöntemin analitik ölçüm aralığındaki (8-450 µg/L) örnekleri değerlendirdik. Bu nedenle geri kazanım çalışmalarını ile daha geniş klinik ölçüm aralığını içeren yöntem karşılaştırma çalışmaları gerçekleştirilmesini öneririz.

KAYNAKLAR

1. Bushnell FK. A guide to primary care iron deficiency anemia. *Nurse* 1992;17(II):13069.
2. Adamson JW. Iron deficiency and other hypoproliferative anemias. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL (editors). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. USA: McGraw-Hill Companies; 2005;586-92.
3. Tam KF, Lao TT. Hemoglobin and red cell indices correlated with serum ferritin concentration in late pregnancy. *Obstet Gynecol* 1999; 93:427-31.
4. Byg KE, Milman N, Hansen S, Agger AO. Serum Ferritin is a Reliable, Non-invasive Test for Iron Status in Pregnancy: Comparison of Ferritin with Other Iron Status Markers in a Longitudinal Study on Healthy Pregnant Women; Erythropoiesis. *Hematology* 2000;5:319-25.
5. Blackmore S, Hamilton M, Lee A, Worwood M, Brierley M, Heath A, et al. Automated immunoassay methods for ferritin: recovery studies to assess traceability to an international standard.

6. Budd JR, Durham AP, Gwise TE, Iriarte B, Kallner A, Magari R, et al. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, EP09-A3; Approved Guideline-3rd ed. Wayne, PA, USA. Clinical Laboratory Standards Institute 2013.
7. Carey RN, Durham AP, Hauck WW, Kallner A, Kondratovich MV, Middle JG, et al. User Verification of Performance for Precision and Trueness, EP15-A3; Approved Guideline-3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2014.
8. Horowitz G, Altaie S, Boyd CJ, Ceriotti F, Garg U, Horn P, et al. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory, C28-A3; Approved Guideline-3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.
9. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33(1):159-74.
10. Goldenberg RL, Mercer BM, Miodovnik M, Thurnau GR, Meis PJ, Moawad A, et al. Plasma ferritin, premature rupture of membranes, and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179(6):1599-604.
11. Sucak GT: Hipokrom Mikrositer Anemiler. İlicin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalin S, Süleymanlar G (editor) *Temel İç Hastalıkları*. 1. Cilt Güneş Kitapevi Ankara 1996; 1184-90.
12. Kotajima N, Ishizaka M, Oshitani S, Fukumura Y, Ushijima Y, Murakami M. Latex agglutination test for ferritin measurement. *J Clin Lab Anal* 2003; 17(6):223-8.
12. Zhang X, Lu Y, Ma L, Peng Q, Qin X, Li S. A comparison study between two analyzers for determining serum ferritin. *Clin Lab* 2015;61(1-2):169-74.
13. Dupuy AM, Debarge L, Poulain M, Badiou S, Rossi M, Cristol JP. Determination of serum ferritin using immunoturbidimetry or chemiluminescent detection in comparison with radioimmunoassay a compendium of a methodological juxtaposition. *Clin Lab* 2009; 55(5-6):207-15.
14. Ng RG, Brown BA, Valdes R. Three Commercial Methods for Serum Ferritin Compared and the High-Dose "Hook Effect" Eliminated. *Clin Chem* 1983; 29(6): 1109-1113.
15. Demirin H, Memişoğulları R, Uçgun T, Yıldırım HA, Celer A, Bulur Ş, et al. Have the reference ranges of anemia parameters like iron, ferritin, vitamin B12 and folate been correctly settled in Turkish adults living in western Black Sea Region. *Turk J Bioch* 2012; 37(4): 356-361.

Yazışma adresi:

Fatma Demet Ince

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

E-mail: fatmademet.arslan@gmail.com