

## سنجش اعتبار تست شکنندگی اسموتیک تک لوله ای چشمی گلوبول های قرمز (NESTROFT) در غربالگری بتا تالاسمی مینور

دکتر سید اسداله امینی<sup>۱</sup>، دکتر آذر غلامی<sup>۱</sup>، مرتضی نیکوکار<sup>۲</sup>، حسین امینی نجف آبادی<sup>۳\*</sup>

<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران <sup>۲</sup>مرکز تحقیقات گیاهان دارویی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۹/۲/۴ اصلاح نهایی: ۱۹/۸/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۹/۱۱/۷

### چکیده:

**زمینه و هدف:** تالاسمی متداولترین اختلال تک ژنی است که رهایی از آن از طریق درمان قطعی ممکن نبوده و مستلزم پیشگیری از طریق به کارگیری یک روش قابل اعتماد و کم هزینه برای غربالگری ناقلین و در مرحله بعد ارایه آموزش، مشاوره ژنتیک، تشخیص قبل از تولد و خاتمه انتخابی به زندگی جنین های مبتلا به این اختلال است. هدف از این مطالعه ارزیابی تست اسموتیک تک لوله ای چشمی گلوبول های قرمز (NESTROFT) به عنوان یک تست غربالگری در راستای کشف مبتلایان به بتا تالاسمی مینور بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، تست NESTROFT بر روی ۱۵۸ نفر متشکل از ۵۱ نفر والدینی که حداقل یکی از بچه های آنها دارای بتا تالاسمی ماژور بود، ۵۱ فرد طبیعی و ۵۶ فرد از مبتلایان به فقر آهن انجام شد. داده های حاصل به کمک آزمون های آماری آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی دانت تجزیه و تحلیل گردید.

**یافته ها:** بر اساس نتایج، حساسیت و ارزش اخباری منفی تست NESTROFT ۱۰۰٪ بوده و با توجه به ۱۴ مورد نتیجه مثبت کاذب ناشی از فقر آهن، ویژگی آن ۸۶/۹٪ و ارزش اخباری مثبت تست ۷۸/۵٪ می باشد.

**نتیجه گیری:** تست NESTROFT در عین کم هزینه بودن و سهولت انجام، حساسیت بالایی برای کشف بتا تالاسمی مینور داشته و می توان از آن در کشورهای در حال توسعه با منابع اقتصادی و تکنیکی محدود از قبیل ایران در مقیاس وسیع جهت غربالگری توده ای استفاده نمود.

**واژه های کلیدی:** بتا تالاسمی مینور، تست های غربالگری، تست شکنندگی اسموتیک چشمی.

### مقدمه:

آبستنی واقع شوند بدون علامت بوده و تنها در این شرایط دچار آنمی می شوند (۳). تالاسمی شایع ترین بیماری تک ژنی در انسان است، که در ساکنین مدیترانه ای، خاور میانه، شبه قاره هند، برمه و در خطی که از چین جنوبی از میان تایلند و شبه جزیره مالایا به ایسلند در اقیانوس آرام کشیده می شود، شیوع بالایی دارد (۴). بر اساس آمارهای موجود حدود ۵ درصد جمعیت دنیا حامل ژن تالاسمی هستند ولی در ایران علیرغم نادر بودن آلفا تالاسمی، شیوع بتا تالاسمی مینور در مناطق مختلف متغیر بوده و از حداقل ۴

تالاسمی ها گروه ناهمگنی از اختلالات ارثی هموگلوبین می باشند که به صورت کاهش یا عدم سنتز یک نوع زنجیره (آلفا یا بتا) گلوبین مشخص می شود (۱). هیپوکروم و میکروسیتوز مشخصه تمام انواع بتا تالاسمی است (۲). در بتا تالاسمی ماژور (هموزیگوس) فقدان کامل یا نسبی زنجیره بتا گلوبین دیده می شود از طرف دیگر گرچه بتا تالاسمی مینور (هتروزیگوس) شایع ترین نوع تالاسمی بوده ولی اکثر قریب به اتفاق افراد مبتلا به آن بجز مواقعی که در معرض استرس اریتروپوئیتیک از قبیل عفونت و یا

\* نویسنده مسئول: شهرکرد - رحمتیه - دانشکده پزشکی - گروه بیوشیمی - تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۳۳۰۵۷، E-mail: saamini@yahoo.com

شده (۸،۷،۶). این مطالعه به منظور بررسی اعتبار این تکنیک در غربالگری بتا تالاسمی مینور در استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت.

### روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی - تحلیلی تعداد ۱۵۸ نفر در سه گروه وارد مطالعه شدند. گروه اول: شامل ۵۱ فرد سالم بوده که سابقه و علائم آنمی نداشته و همچنین متعلق به خانواده تالاسمیک نبوده و جهت اهداء خون به مرکز انتقال خون شهرکرد مراجعه نموده اند. گروه دوم: شامل ۵۱ نفر والدین دارای حداقل یک فرزند تالاسمی ماژور بوده که جهت درمان فرزند خود به بخش تالاسمی بیمارستان هاجر شهرکرد مراجعه نموده بودند. گروه سوم: شامل ۱۳۵ نفر افراد مشکوک به فقر آهن بود که جهت تعیین درصد اشباع ترانسفرین به آزمایشگاه های مرکزی و الزهرا<sup>(س)</sup> شهرکرد ارجاع داده شده که از این تعداد ۵۶ نفر که دارای اشباع ترانسفرین کمتر از ۱۵ درصد بودند به عنوان فقر آهن تشخیص داده شده و وارد مطالعه گردید و ۷۹ نفر باقیمانده این گروه به دلیل داشتن اشباع ترانسفرین مساوی یا بالاتر از ۱۵ درصد از مطالعه حذف شد. از افراد مورد مطالعه نمونه خون با ماده ضد انعقاد EDTA به میزان ۲-۱ میلی گرم در هر میلی لیتر خون، گرفته شد. آزمایش NESTROFT حداکثر ۴ ساعت پس از زمان خون گیری انجام گرفت. میزان آهن (Fe) و ترانسفرین (TIBC) به منظور تعیین درصد اشباع ترانسفرین با استفاده از روش فروزین اندازه گیری شد (۹).

### روش تهیه معرف لازم جهت انجام آزمایش:

۱- آماده سازی معرف ذخیره ( 10% buffered saline): جهت این منظور مقدار ۹۰ گرم سدیم کلراید، ۱۳/۶۵ گرم  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  و ۲/۴ گرم از  $\text{H}_2\text{O}$  .  $2 \text{ NaH}_2\text{PO}_4$  را در مقداری آب مقطر حل نموده و حجم نهایی محلول به یک لیتر رسانده می شود (۱۰، ۱۱).

درصد تا حداکثر ۱۰ درصد گزارش شده است (۵). هر چند درمان مبتلایان به تالاسمی ماژور می تواند طول عمر را تا بزرگسالی افزایش دهد اما این درمان بسیار مشقت آور و پر هزینه بوده و شامل انتقال خون، استفاده از داروهای شلاته کننده آهن و در بعضی موارد پیوند مغز استخوان می باشد. از این رو تولد نوزاد مبتلا به تالاسمی ماژور نه تنها برای خود فرد و خانواده اش مشکلات عدیده ای را فراهم می کند بلکه برای جامعه نیز پیامدهای ناگواری را در بر دارد. بهترین راه حل این معضل جایگزینی تدریجی پیشگیری از تولد نوزادان مبتلا به این اختلال به جای درمان آنها می باشد. با توجه به اینکه ابتلا به تالاسمی ماژور ناشی از ازدواج زوج دارای تالاسمی مینور است کشف این گونه افراد و ممانعت از ازدواج آنها اهمیت شایانی در کاهش شیوع این بیماری خواهد داشت.

آزمون های غربالگری زیادی از قبیل تعیین اندکس های گلوبول های قرمز و هموگلوبین (HbA2) A2 برای کشف حاملین ژن بیماری بکار گرفته شده است اما اغلب آنها نه تنها وقت گیر می باشد بلکه به تجهیزات آزمایشگاهی پیچیده و تکنسین های ماهر نیز نیاز دارد. بعضی از محققین ادعا نموده اند که آزمون شکنندگی اسموتیک تک لوله ای چشمی گلوبول های قرمز (NESTROFT) = (Naked Eye Single Tube Red cell Osmotic Fragility Test) می تواند تکنیکی مناسب برای دستیابی به این هدف باشد. زیرا این تکنیک ارزان قیمت و سریع بوده و نیاز به تجهیزات پیچیده و تکنسین ماهر نیز ندارد و امکان غربالگری بتا تالاسمی مینور را در سطح وسیع فراهم می کند (۴). این تکنیک کاربردهای دیگری نیز داشته و از آن می توان برای غربالگری هموگلوبینوپاتی E (Hb E) و S (Hb S) نیز استفاده کرد (۶).

از آنجایی که تحقیقات انجام گرفته در مناطق جغرافیایی مختلف جهان، درجه اعتبار مشابهی را برای این آزمون نشان نمی دهند و نتایج متفاوتی از مناطق مختلف دنیا، بسته به میزان شیوع بیماری های خونی منطقه گزارش

## ۲- تهیه محلول کار 0.36%

برای تهیه این محلول ابتدا به نسبت ۱ به ۱۰ محلول ذخیره را با آب مقطر رقیق نموده تا محلول ۱ درصد تهیه شود و پس از آن ۳۶ ml از این محلول را با ۶۴ ml آب مقطر مخلوط نموده تا محلول کار بدست آید. این محلول در ظرف در بسته در دمای معمولی قابل نگهداری است.

## روش انجام آزمایش NESTROFT:

در یک لوله آزمایش به ارتفاع ۱۰ سانتیمتر و قطر یک سانتیمتر ۲ میلی لیتر از محلول کار و در لوله مشابه دیگری همین حجم آب مقطر ریخته می شود و سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه خون کامل مورد نظر به هر کدام از لوله ها اضافه گردیده و سر لوله ها را با ورقه پارافیلیم بسته، محتوی لوله ها را مخلوط نموده و مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری می شود. پس از این مدت محتوی لوله ها دوباره مخلوط شده و در مقابل برگه سفیدی که یک خط مشکی نازک بر روی آن ترسیم شده قرائت می شود. بدین ترتیب از ورای لوله محتوی آب مقطر (کنترل) خط مذکور به وضوح مشاهده می گردد و چنانچه خط از ورای لوله محتوی محلول کار نیز با همان وضوح دیده شود تست منفی محسوب شده و در صورت واضح نبودن مثبت تلقی می گردد (۱۱،۱۰).

پس از انجام تست NESTROFT اندکس های

گلبول های قرمز توسط دستگاه کولتر الکترونیکی Sysmex KX-21N تعیین گردید.

اندکس های RBC در سه گروه جمع آوری گردیده و مقایسه گروه ها با آنالیز یک راهه انجام گرفت. در صورت معنی داری این آزمون مقایسات زوجی گروه ها با گروه نرمال توسط آزمون تعقیبی دانت انجام گرفت  $P < 0.05$  معنی دار تلقی شد.

با استفاده از نتایج حاصل از تست NESTROFT حساسیت (Sensitivity)، ویژگی (Specificity)، ارزش اخباری مثبت (Positive Predictive Value) و ارزش اخباری منفی (Negative Predictive Value) با استفاده از فرمول های مربوطه محاسبه گردید (۱۱).

## یافته ها:

### نتایج حاصل از تعیین اندکس های RBC:

میانگین تعداد گلبول قرمز (RBC)، مقدار هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (PCV)، متوسط حجم گلبولی (MCV) و متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) تفاوت معنی دار بین دو گروه بتاتالاسمی مینور و فقر آهن در مقایسه با گروه نرمال وجود داشت ( $P < 0.05$ ) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین اندکس های گلبول های قرمز در گروه های مورد مطالعه

فاکتور	گروه	نرمال n=51	بتا تالاسمی مینور n=51	Pvalue	فقر آهن n=56	Pvalue*
تعداد گلبول قرمز (μL)		$5/65 \times 10^6 \pm 0/47 \times 10^6$	$6/72 \times 10^6 \pm 0/75 \times 10^6$	0/002	$4/90 \times 10^6 \pm 0/55 \times 10^6$	0/004
مقدار هموگلوبین در (μL)		$16/07 \pm 1/37$	$12/94 \pm 1/41$	0/002	$11/30 \pm 1/4$	<0/001
میزان هماتوکریت (%)		$46/58 \pm 3/38$	$41/89 \pm 4/92$	0/004	$35/38 \pm 4/34$	<0/001
میزان متوسط حجم گلبولی (fL)		$82/27 \pm 3/14$	$62/9 \pm 3/88$	<0/001	$71/96 \pm 6/28$	0/003
میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (pgr)		$28/73 \pm 1/34$	$19/06 \pm 1/62$	<0/001	$22/12 \pm 2/44$	<0/001

- داده ها به صورت "انحراف معیار ± میانگین" است.

\* Pvalue در مقایسه با گروه نرمال می باشد.

تالاسمی مینور پیشنهاد شده است (۸) و ادعا گردیده که می تواند جایگزین مناسبی جهت تست های غربالگری بتا تالاسمی مینور باشد.

در این مطالعه نشان داده شد که NESTROFT برای تمام افراد سالم (شاهد) منفی و برای تمام افراد بتا تالاسمی مینور مثبت بوده و برای افراد دارای فقر آهن ۷۵ درصد منفی و ۲۵ درصد مثبت می باشد که با مطالعات انجام شده توسط بعضی از محققین هماهنگی دارد (۱۶-۱۱). در مطالعات انجام شده، NESTROFT در ۱۶/۴ تا ۳۳/۳ درصد از افراد دارای فقر آهن مثبت گزارش شده است که احتمالاً علت این تفاوت ناشی از درجه شدت فقر آهن افراد مورد مطالعه می باشد (۱۵-۱۱). با توجه به ساده بودن روش انجام تست و پایدار بودن معرف های مورد استفاده به نظر می رسد یکی از علل اصلی کسب نتایج متفاوت توسط محققین مختلف، تفاوت در گروه های آزمایش شونده باشد (۱۴-۱۱). حساسیت NESTROFT در این مطالعه مشابه حساسیت گزارش شده توسط Gorakcheker و همکاران می باشد (۱۳) اما در مقایسه با تعداد دیگری از مطالعات تا اندازه ای بیشتر است (۶، ۱۰، ۱۱، ۱۷، ۱۶، ۱۴، ۱۲). در مطالعه صورت گرفته در شیراز نیز حساسیت این تست در آن منطقه در مقایسه با سایر نقاط دنیا تا اندازه ای متفاوت گزارش شده است (۸).

ویژگی این تست در مطالعه اخیر ۸۶/۹ درصد بدست آمد که حاکی از ویژگی نسبتاً بالای تست بوده، که احتمالاً می تواند برای این منطقه گزینه مناسبی جهت غربالگری بتا تالاسمی مینور باشد. در مطالعات انجام شده توسط Suri و همکاران (۶) و Thomas و همکاران (۱۶) با وجود کسب ویژگی پائین تر در این مورد آنرا به عنوان تستی کارآمد و فراگیر جهت غربالگری بتا تالاسمی مینور در هند معرفی نموده اند. علت گزارش ویژگی متفاوت برای این تست در مناطق مختلف احتمالاً ناشی از

نتایج حاصل از تست NESTROFT نشان داد تعداد مثبت حقیقی: ۵۱ نفر (تمام حاملین ژن تالاسمی)، تعداد منفی حقیقی: ۹۳ نفر (شامل ۵۱ نفر سالم و ۴۲ نفر مبتلا به فقر آهن)، تعداد مثبت کاذب: ۱۴ نفر (تماماً از گروه فقر آهن)، تعداد منفی کاذب: ۰ حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری منفی و ارزش اخباری مثبت تست با استفاده از نتایج فوق محاسبه و به ترتیب برابر ۱۰۰، ۸۶/۹، ۱۰۰ و ۷۸/۵ تعیین شد.

### بحث:

بتا تالاسمی ماژور (آنمی کولی) یک بیماری ژنتیک است که بدون درمان موجب مرگ در خرد سالی شده و اقدامات درمانی آن تاکنون بسیار پرهزینه و مشقت بار بوده و بقای بیش از چهار دهه زندگی را به همراه نداشته است. بنابراین بهترین راه مبارزه با این بیماری پیشگیری از تولد نوزاد مبتلا به تالاسمی ماژور می باشد.

برای پیشگیری از آنمی کولی، شناسایی حاملین ژن بتا تالاسمی (بتا تالاسمی مینور) ضروری است. غربالگری بتا تالاسمی مینور بسیار مشکل بوده زیرا تست مناسب و کم هزینه جهت شناسایی حاملین برای استفاده عام و گسترده وجود ندارد بنابراین جهت رفع این مشکل تلاش های زیادی به عمل آمده تا تستی کارآمد و فراگیر برای غربالگری این اختلال ابداع شود (۸). تاکنون بیشتر از اندازه گیری میزان متوسط حجم گلبولی (MCV) جهت تامین این هدف استفاده شده است که نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی پیشرفته، پرسنل مجرب و دستگاه کولترکانتر کالیبره شده دارد و فراهم نشدن این شرایط سبب می گردد که نتایج دور از واقعیت گزارش شود، مضاف بر آن در مناطق دور افتاده به دلیل کمبود امکانات آزمایشگاهی و نیروی متخصص امکان غربالگری کامل جامعه وجود ندارد. اخیراً تستی موسوم به NESTROFT در بعضی از کشورها از قبیل هندوستان برای غربالگری بتا

ترانسفرین سرم، برآورد سطح HbA2 خون و بررسی سابقه خانوادگی از نظر وجود افراد تالاسمیک اشاره نمود (۱۴،۱۱).

### نتیجه گیری:

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه به نظر می رسد که NESTROFT در مقایسه با تست هایی از قبیل تعیین MCV برای غربالگری بتا تالاسمی مینور در این منطقه مناسب باشد و احتمالاً می توان از آن جهت غربالگری بتا تالاسمی مینور در سایر استان های ایران نیز استفاده نمود بویژه آنکه نیاز به وقت و مهارت چندانی نیز نداشته و با حداقل تجهیزات قابل انجام است به نحوی که فردی با تجربه آزمایشگاهی اندک نیز در یک خانه بهداشت می تواند ۴۰ تا ۵۰ تست را در ساعت انجام دهد.

### تشکر و قدردانی:

وظیفه خود می دانیم که از همکاری صمیمانه آقایان دکتر سلیمان خیری و دکتر مسعود لطفی زاده و همچنین حمایت های مالی معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که امکان اجرای طرح را فراهم آوردند تشکر و قدردانی نماییم.

بیماری هایی است که آنها نیز می توانند شکنندگی اسموتیک گلبول های قرمز را تحت تاثیر قرار دهند.

در این مطالعه ارزش اخباری مثبت ۷۸/۵ درصد بدست آمده که این مربوط به تاثیر ویژگی تست می باشد، که از نتایج مطالعات ستوده مرام و همکاران در شیراز (۸) Kattamis و همکاران (۱۷) و Thomas و همکاران (۱۶) کمتر بوده ولی از نتایج حاصل از بسیاری مطالعات انجام شده دیگر بیشتر است (۱۴-۱۰).

از آنجایی که آنمی فقر آهن در این منطقه شیوع بالایی دارد، احتمالاً اکثریت قریب به اتفاق موارد مثبت کاذب تست ناشی از فقر آهن بوده که ارزش اخباری مثبت و ویژگی تست را اندکی کاهش داده است. ارزش اخباری منفی NESTROFT در این مطالعه کاملاً مشابه نتایج Gorakcheker و همکاران (۱۳) در هند می باشد و با نتایج سایر مطالعات نیز تقریباً نزدیک است (۱۴-۱۰، ۱۶).

از آنجایی که جواب مثبت تست به احتمال ۲۱/۵ درصد مربوط به عواملی بجز بتا تالاسمی مینور می باشد در این موارد بررسی های تکمیلی بیشتری جهت رد یا اثبات بتا تالاسمی مینور مورد نیاز است. از جمله بررسی های تکمیلی می توان به بررسی پارامترهای هماتولوژیک، بررسی درصد اشباع

### منابع:

1. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harper's illustrated biochemistry. 28<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 2009. p: 49-50.
2. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's principles of internal medicine. 17<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 2008. p: 598-9.
3. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Titez textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4<sup>th</sup> ed. Missouri: Elsevier Inc; 2006. p: 1180-81.
4. Singh SP, Gupta SC. Effectiveness of red cell osmotic fragility test with varying degrees of saline concentration in detecting beta-thalassaemia trait. Singapore Med J. 2008 Oct; 49(10): 823-6.
5. Rahim F, Abromand M. Spectrum of beta thalassaemia mutations in various ethnic regions of Iran. Pak J Med Sci. 2008; 24(3): 410-15.

6. Suri V, Sidhu P, Kanwal S, Chopra B. Evaluation of naked eye single tube red cell osmotic fragility test (NESTROFT) as a screening test in detection of  $\beta$ -thalassaemia trait. *Indian J Hemat & Blood Tranf.* 2001; 19(1): 6-7.
7. Maheshwar M, Arora S, Kabra M, Menon PSN. Carrier screening and prenatal diagnosis of  $\beta$ -thalassemia. *Indian Pediatr.* 1999; 36: 1119-25.
8. Setoudeh Maram E, Mohtasham Amiri Z, Haghshenas M. Effectiveness of osmotic fragility screening with varying saline concentration in detecting  $\beta$ -thalassemia trait. *Iranian J Med Sci (IJMS).* 2000 June; 25(1-2): 56-8.
9. Makino T, Kiyonaga M, Kina K. A sensitive, direct colorimetric assay of serum iron using the chromogen, nitro-PAPS. *Clin Chim Acta.* 1988 Jan; 171(1): 19-27.
10. Gomber S, Sanjeev Madan N. Validity of nestroft in screening and diagnosis of beta-thalassemia trait. *J Trop Pediatr.* 1997 Dec; 43(6): 363-6.
11. Raghavan K, Lokeshwar MR, Birewar N, Nigam V, Manglani MV, Raju B. Evaluation of naked eye single tube red cell osmotic fragility test in detecting beta-thalassemia trait. *Indian Pediatr.* 1991 May; 28(5): 469-72.
12. Mehta BC, Gandhi S, Mehta JB, Kamath P. Naked eye single tube red cell osmotic fragility test for  $\beta$ -thalassemia: population survey. *Indian J Hemat.* 1988; 6: 187-90.
13. Gorakshaker AC, Colah R, Nadkarni A, Desai S. Evaluation of the single tube red cell osmotic fragility test in detection of beta-thalassemia trait. *Natl Med J India.* 1990; 3: 171-3.
14. Tongprasert F, Sirichotiyakul S, Piyamongkol W, Tongsong T. Sensitivity and specificity of simple erythrocyte osmotic fragility test for screening of alpha-thalassemia-1 and Beta-thalassemia trait in pregnant women. *Gynecol Obstet Invest.* 2010; 69(4): 217-20.
15. Basu S, Kumar A, Sachdeva MP, Saraswathy KN. Incidence of NESTROFT-positives and haemoglobin S among the jats and brahmins of sampla. *Anthropol.* 2008; 10(3): 203-5.
16. Thomas S, Srivastava A, Jeyaseelan L, Dennison D, Chandy M. NESTROFT as a screening test for the detection of thalassaemia & common haemoglobinopathies-an evaluation against a high performance liquid chromatographic method. *Indian J Med Res.* 1996 Aug; 104: 194-7.
17. Kattamis C, Efremov G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility screening in detecting beta-thalassaemia trait. *J Med Genet.* 1981 Aug; 18(4): 266-70.

**Cite this article as:** Amini SA, Gholami A, Nikoukar M, Amini-NajafAbadi H.  
 [Validity of naked eye single tube red cell osmotic fragility test  
 (NESTROFT) in screening of beta-thalassemia trait. *J Shahrekord Univ Med  
 Sci.* 2011 Apr, May; 13(1): 55-60.]Persian

Received: 24/Apr/2010

Revised: 3/Sep/2010

Accepted: 27/Jan/2011

## Validity of naked eye single tube red cell osmotic fragility test (NESTROFT) in screening of beta-thalassemia trait

Amini SA (PhD)<sup>1</sup>, Gholami A (MD)<sup>1</sup>, Nikoukar M (MSc)<sup>2</sup>, Amini-NajafAbadi H (MSc)\*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord Univ. of Med. Sci. Shahrekord, Iran, <sup>2</sup>Medical Plants Research Center, Shahrekord Univ. of Med. Sci. Shahrekord, Iran.

**Background and aim:** Thalassemia is the most common single gene disorder which is not completely cured. It is needed to find a reliable and cost-effective prevention method for screening the disease. For the next step, it is needed to give proper education, genetic consulting and prenatal diagnosis for the patients and finally selective termination of affected fetuses. The aim of this study was to evaluate effectiveness of the Naked Eye Single Tube Red Cell Osmotic Fragility Test (NESTROFT) as a screening test for beta-thalassemia trait.

**Methods:** In this descriptive –analytical study, NESTROFT was applied to a total of 158 subjects who were divided into three groups. Group I was comprised of 51 individuals belonging to parents whom at least one of the children was suffering from  $\beta$ -thalassemia major, group II was consisted of 51 normal individuals and finally group III was comprised of 56 individuals with iron deficiency.

**Results:** The findings of this study showed that sensitivity of the test was as high as 100 percent and specificity was 86.9 percent. The predictive value of the positive test was 78.5 percent and the negative test was as high as 100 percent. False positive results were obtained in 14 cases with iron deficiency.

**Conclusion:** NESTROFT emerged as a highly sensitive, inexpensive and easy to perform test for exclusion of beta-thalassemia trait. It is therefore a suitable test for large-scale use in a developing country such as Iran, which has got limited financial and technical resources.

**Keywords:** NESTROFT, Screening tests, Beta-thalassemia trait.

Cite this article as: Amini SA, Gholami A, Nikoukar M, Amini-NajafAbadi H. [Validity of naked eye single tube red cell osmotic fragility test (NESTROFT) in screening of beta-thalassemia trait. J Shahrekord Univ Med Sci. 2011 Apr, May; 13(1): 55-60.]Persian

\*Corresponding author:  
Medical Plants Research  
Center, Shahrekord Univ. of  
Med. Sci, Rahmatieh,  
Shahrekord, Iran.  
Tel:  
0381-3333057  
E-mail:  
saamini@yahoo.com