

Ferritin Turbidimetry

مقدمه :

فریتین ترکیبی است از هیدروکسید فریک و پروتئین آپوفریتین و نشانه ذخیره آهن است که از ۲۴ واحد تشکیل شده است. این مجموعه به شکل یک کره تو خالی است که می تواند ۴۰۰۰ اتم آهن را در خود جای دهد. فریتین دارای بار آهن، منبع اولیه ذخیره آهن سلول ها و بافت ها است که جهت ساخت هموگلوبین به سهولت در دسترس قرار می گیرد.

بیشترین شکل آهن ذخیره، به شکل آهن ۳ ظرفیتی باند شده با فریتین است. تغییرات میزان فریتین سرم معمولاً در ارتباط با تغییرات غلظت فریتین در بافت است و اندازه گیری غلظت فریتین سرم در واقع ارزیابی کمی ذخیره آهن می باشد. بنابراین کاهش غلظت فریتین نشانه کاهش آهن بافت ها است و اندازه گیری آن برای تشخیص سریع آنمی فقر آهن به کار می رود.

افزایش غلظت فریتین سرم می تواند بیانگر اضافه بار آهن که در ارتباط با نارسایی های مربوط به ذخیره آهن است (مانند بیماری هموکروماتوزیس ارثی یا اکتسابی) باشد. همچنین این افزایش در ارزیابی شرایط بالینی غیر مربوط به ذخیره آهن مانند بیماریهای مزمن کبدی، عفونت ها، التهاب و تومورهای بدخیم دیده می شود.

روش :

توربیدولاتکس تقویت شده برای اندازه گیری فوتومتریک

اساس آزمایش :

در این آزمایش Ferritin موجود در نمونه بیمار با آنتی بادی حساس شده بر علیه Ferritin انسانی، تشکیل کمپلکس داده و ایجاد کدورت می نماید. مقدار کدورت ایجاد شده با مقدار Ferritin موجود در نمونه بیمار رابطه مستقیم دارد.

مقادیر معرف ها :

R1:		
Good Buffer	pH 8.3	97 mmol/L
Sodium Azide		---
Bovine serum albumin		5 g/L
R2:		
Good Buffer	ph 8.2	99 mmol/L
Anti-human ferritin antibody coated latex		2 mmol/L

شرایط نگهداری و پایداری محلول ها :

محلول معرف بصورت آماده مصرف می باشد.

توجه : از فریز نمودن و قرار دادن محلول ها در مجاورت نور خودداری شود.

لوازم و مواد مورد نیاز :

تجهیزات معمول آزمایشگاه پزشکی

سرم فیزیولوژی (محلول NaCl با غلظت ۹ گرم در لیتر)

نمونه ها :

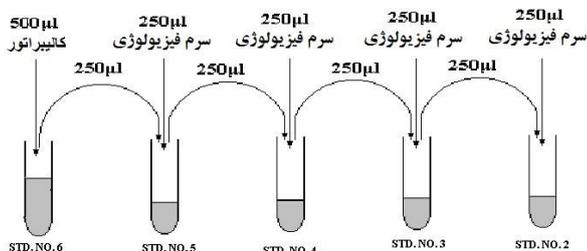
سرم بدون همولیز، از آلوده شدن نمونه ها جلوگیری شود.

کالیبراتور و کنترل ها :

جهت کالیبر و کنترل کیت Ferritin، میتوانید از کالیبراتور و کنترل های موجود در بازار منطبق با روش کیت شرکت پرشین تجهیز سیستم استفاده نمایید. در صورت تغییر لات نامبر و یا عدم انطباق نتایج کنترل کیفی، محصول نیاز به کالیبراسیون مجدد دارد.

روش آماده سازی کالیبراتور :

برای تهیه کالیبراتور ها، ابتدا 500µl از Ferritin Calibrator را در ظرف شماره ۶ ریخته (غلظت کالیبراتور بر روی ویال درج شده است)، سپس طبق شکل زیر از آن سریال رقت تهیه نمایید تا به کالیبراتور شماره ۲ برسید. از کالیبراتور شماره ۲ رقت تهیه شده را به کالیبراتور شماره ۱ منتقل نکنید تا به این ترتیب کالیبراتور شماره ۱ تنها سرم فیزیولوژی با غلظت صفر باشد.



روش انجام آزمایش به صورت دستی :

طول موج : ۵۴۰ نانومتر

قطر کووت : یک سانتیمتر

دما : ۳۷ درجه سانتیگراد

اندازه گیری : فوتومتر با بلانک آب مقطر روی صفر تنظیم شود.

نمونه یا کالیبراتور و کنترل	بلانک
آب مقطر	100 میکرولیتر
نمونه یا کالیبراتور	100 میکرولیتر
محلول شماره ۱	۸۰۰ میکرولیتر
محلول شماره ۲	۲۰۰ میکرولیتر

پس از مخلوط نمودن به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه نموده و سپس محلول شماره دو را به ترتیب زیر اضافه نمایید.

پس از مخلوط نمودن دقیقاً به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه نموده و جذب نوری اولیه کالیبراتور و نمونه ها را اندازه گیری نمایید. سپس دقیقاً پس از ۵ دقیقه آنکوباسیون مجدد در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد جذب نوری ثانویه را در برابر شاهد اندازه گیری نمایید.

برای محاسبه تغییرات جذب نوری (ΔA)، جذب نوری اندازه گیری شده در مرحله اول برای هر کووت را از جذب نوری اندازه گیری شده در مرحله دوم کسر نمایید. سپس تغییرات جذب نوری بدست آمده برای کالیبراتور های مختلف را در جدول لگاریتمی وارد نموده و بر اساس منحنی بدست آمده غلظت کنترل و نمونه ها را تعیین نمایید.

Ferritin

Turbidimetry

روش دستگاهی :

جهت دریافت روش انجام تست به صورت دستگاهی با شماره های شرکت تماس حاصل فرمایید.

مقایسه روش ها :

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت Ferritin شرکت پرشین تجهیز سیستم (Y) با یکی از متداول ترین کیت های Ferritin (X) بر روی 50 نمونه بیمار نتیجه زیر بدست آمد.

$$Y = 0.9882X + 0.1857 \mu\text{g/L}$$

$$R^2 = 0.9989$$

هشدارها:

از بلعیدن و تماس مستقیم محلول ها با دهان و دست و چشم ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.
کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلول ها رعایت گردد.

عوامل مداخله گر :

بیلی روبین تا غلظت ۴۰ میلی گرم در دسی لیتر باعث تداخل در آزمایش نمی شود.
هموگلوبین در تمامی مقادیر، داروهای حاوی آهن، قرص های ضد بارداری، افزایش میزان فاکتور روماتوئید، دریافت رادیو داروها جهت اسکن هسته ای، مصرف زیاد الکل و تزریق خون باعث تداخل در نتایج آزمایش می شود.
همچنین مصرف ویتامین C با دوز بالا و بارداری ممکن است باعث کاهش سطح فریتین در سرم به صورت کاذب گردد.
توجه: لطفاً از به کار بردن نمونه های همولیز شده جداً خودداری شود.

محدوده اندازه گیری :

این کیت جهت اندازه گیری فریتین در محدوده ۱۰ تا آخرین غلظت کالیبراتور طراحی شده و در مواردی که مقدار فریتین بیش از آخرین غلظت کالیبراتور باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۲ ضرب شود.

دقت (در ۳۷ درجه سانتیگراد) :

Intra-assay precision n=50	Mean (µg/L)	SD (µg/L)	CV (%)
Sample 1	15.32	0.64	4.18
Sample 2	28.96	1.05	3.61
Sample 3	220.94	3.37	1.52

Inter-assay precision n=50	Mean (µg/L)	SD (µg/L)	CV (%)
Sample 1	15.30	0.67	4.38
Sample 2	28.99	1.07	3.69
Sample 3	223.17	3.58	1.60

دامنه مرجع :

Men	20 – 300 µg/L
Women	10 – 110 µg/L
Postmenopausal Women	20 – 307 µg/L

مآخذ :

- Knovich MA et al., Blood Rev. 2009 23(3):95-104.
- Mazza J et al. Can Med Assoc J 1978; 119: 884-886
- Rodriguez Perez J et al. Revista Clinica Espaola 1980: 156 (1): 39-43
- Milman N et al. Eur J Haematol 1994: 53: 16-20.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 5th ed. AACC Press, 1999.

بهداشت و ایمنی دفع مواد زائد :

بر طبق قوانین تدوین شده وزارت بهداشت عمل شود.