کیت سنجش TIBC

(Colorimetric Method)

REF: PA36001-65 R1 1 x 50 mL / R2 1 x 15 mL

ISO: 13485:2016

مقدمه:

انتقال آهن از یک اندام به اندام دیگر به وسیله پروتئین پلاسمایی آپوترانسفرین صورت می گیرد. این پروتئین که یک β_1- گلوبین با وزن مولکولی ۷۵ kDa است دارای دو جایگاه اتصال به آهن می باشد، هر جایگاه می تواند به یک یون آهن فریک Fe^{3+} همراه با یک یون بیکربنات (HCO_3^-) متصل شود. این دو جایگاه در pH فیزیولوژیک دارای میل پیوندی بالایی برای یون آهن فریک (Fe^{3+}) بوده ولی با کاهش pH میل پیوندی آنها کاهش می یابد و امکان آزاد شدن آهن در درون اندامک های سلولی را فراهم می سازد. کمپلکس آپوترانسفرین - Fe^{3+} را ترانسفرین می گویند. آهن موجود در سرم به ترانسفرین متصل می شود، اما از آنجایی که در حالت طبیعی تنها یک سوم (حدود ۳۰٪-۲۵) جایگاه های متصل شونده به آهن بر روی ترانسفرین به وسیله Fe^{3+} اشغال می شوند، این پروتئین دارای ظرفیت پرنشده قابل ملاحظه ای برای اتصال Fe^{3+} است ظرفیت اشباع نشده اتصال به آهن ترانسفرین یاUIBC (Unsaturated Iron-Binding Capacity) نشان دهنده جایگاه های اتصال به آهن قابل دسترس (خالی) در سرم می باشد. ظرفیت اتصال آهن کل یا TIBC (Total Iron-Binding Capacity) بیانگر مقدار آهن مورد نیاز برای اشباع کردن کامل (۱۰۰٪) ترانسفرین است، به عبارت دیگر TIBC حداکثر میزان آهنی است که می تواند به پروتئین های سرم بویژه آپوترانسفرین متصل شود. ترانسفرین در کبد ساخته می شود و غلظت پلاسمایی آن به وسیله سطح آهن تنظیم می شود، در کمبود آهن، سطح ترانسفرین افزایش یافته ولی درصد اشباع آن کاهش می یابد، برعکس در کم خونی های ناشی از بیماری های مزمن غلظت ترانسفرین ممکن است طبیعی بوده و یا کاهش یابد ولی درصد اشباع ترانسفرین افزایش می یابد. ترانسفرین جزء پروتئین های واکنشی منفی فاز حاد است به این معنی که در واکنش های التهابی حاد مختلف، سطح آن کاهش می یابد. میزان TIBC سرم در اختلالات مربوط به متابولیسم آهن متغیر است و غالباً در کمبود آهن افزایش یافته و در اختلالات التهابی مزمن، بدخیمی ها و هموکروماتوز کاهش می یابد.

روش : **Colorimetric Method**

اصول آزمایش:

مرحله اول: اتصال آهن به رنگ

در این مرحله معرف R1 که یک بافر اسیدی حاوی یک رنگ متصل شونده به آهن و همچنین کلرید آهن (III) است به نمونه سرمی افزوده می شود. pH اسیدی معرف R1 باعث جدا شدن آهن از ترانسفرین می شود. آهن جدا شده با رنگ موجود در بافر یک کمپلکس رنگی تشکیل می دهد. کمپلکس رنگی تشکیل شده در انتهای این مرحله نشان دهنده آهن سرمی (آهن متصل به ترانسفرین) بعلاوه مقدار آهن اضافی موجود در معرف R1 است.

مرحله دوم: اتصال آهن به ترانسفرین

در این مرحله معرف R2 که یک بافر خنثی است به مخلوط واکنش افزوده می شود که این امر باعث تغییر pH محیط واکنش می شود. این تغییر pH باعث افزایش شدید میل پیوندی ترانسفرین نسبت به آهن می شود. ترانسفرین با جدا کردن آهن از کمپلکس آهن – رنگ به سرعت به آن متصل می شود. میزان کاهش شده در جذب کمپلکس آهن – رنگ به طور مستقیم متناسب با ظرفیت تام اتصال آهن (TIBC) سرم دارد.

Step1:

$$\text{Sample} + FeCl_3 + \text{Iron – binding dye} \xrightarrow{\text{Acid buffer}} \text{Dye – Iron complex , pH 4.5}$$

Step 2:

$$\text{Dye – Iron Complex} \xrightarrow{NaHCO_3} \text{Iron bound to transferrin, pH 7.0}$$

محتویات کیت:

Reagent Bottle	Description	Content
R1	Acetate buffer	-----
	Chromazorol-B	166 µmol/L
	Cetrimide	735 µmol/L
	Ferric chloride	16 µmol/L
	Sodium azide	%0/05
R2	Sodium bicarbonate	338 mmol/L

آماده سازی محصول:

تهیه محلول برای حالت دو محلول جدا از هم (Substrate Start)؛ معرف های R1 و R2 بصورتی که جداگانه مورد استفاده قرار گیرند (Substrate Start) آماده مصرف می باشند.

مواد و وسایل مورد نیاز:

۱-کووت مناسب با قطر یک سانتیمتر

۲- اسپکتروفتومتر یا کالریمتر با قابلیت اندازه گیری در دامنه ۶۶۰ نانومتر

۳- بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد (۰/۱ درجه سانتیگراد)

۴- سمپلر دقیق و کالیبره شده

۵- نوک سمپلر نو و تمیز زرد و آبی

۶- دستگاههای عمومی آزمایشگاه

۷-استاندارد یا کالیبراتور معتبر (میتوان از مولتی کالیبراتور عرضه شده توسط شرکت پارس پیوند پویش استفاده نمود.)

نگهداری و پایداری:

- معرفها در صورتیکه در دمای ۸°C - ۲ به دور از نور مستقیم نگهداری شوند تا پایان تاریخ انقضاء درج شده بر روی برچسب کیت پایدار و قابل استفاده خواهند ماند. از آلوده شدن معرفها و نگهداری آنها در دمای انجماد یا در معرض نورمستقیم خودداری شود.

روش انجام آزمایش:

پارامترها: **دما**: ۳۷ درجه سانتیگراد / **طول موج**: ۶۶۰ نانومتر / **کووت**: یک سانت / **خوانش**: مقابل بلانک معرف / **نوع واکنش**: افزایشی

بلانک	کالیبراتور/نمونه/کنترل	
معرف R1	۲۲۵ میکرولیتر	۲۲۵ میکرولیتر
کالیبراتور / نمونه / کنترل	----	۱۸ میکرولیتر
مخلوط کرده ، به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کنید ، خوانش اول (A1)را انجام دهید، سپس:		
معرف R2	۷۵ میکرولیتر	۷۵ میکرولیتر
مخلوط کرده، به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه نمایید، خوانش دوم(A2) را انجام دهید.		

✓ پارامترهای این کیت برای آنالایزرهای مختلف موجود است لطفاً جهت دریافت با بخش فنی شرکت پارس پیوند پویش تماس حاصل فرمائید.

ضریب تبدیل واحد:

µmol/L = µg/dL x 0.179

مقادیر طبیعی:

طبیعی	250-450 µg/dl

* توصیه می شود هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی مربوط به محدوده جمعیتی خود را تعیین کند.*

تهران ، میدان توحید ، خیابان توحید ، بن بست آزادی ، پلاک ۳ ، واحد ۱

پشتیبانی فنی: ۶۶۵۹۶۳۸۸-۰۲۱

کنترل کیفی:

جهت کنترل کیفی میتوان از سرم کنترل های معتبر که توسط شرکت پارس پیوند پویش عرضه می شود استفاده نمود.

خصوصیات علمی کیت:

۱- محدوده اندازه گیری:

ماکزیمم حد سنجش: 600 µg/dL

حساسیت: 70.0 µg/dL

توجه:

- نمونه هایی که غلظت از حد خطی بیشتر باشد نمونه را با سرم فیزیولوژی ۰,۹g/L NaCl ۱+۱۰ رقیق نموده و نتیجه را در ۱۱ ضرب کنید.
- جهت انجام این آزمایش از پیپتهای شیشه ای تمیز و نوک سمپلر نو استفاده شود.

۲- **صحت:** در مقایسه با کیت و کنترلهای معتبر مشابه

$y=0.996X + 0.187$ $R^2=0.988$

۳- **دقت:**

INTRA ASSAY (WITHIN-RUN) (n=20)

	Mean (µg/dL)	S.D. (µg/dL)	CV%
Sample I	380	5.1	1.34
Sample II	570	6.2	1.08

INTER ASSAY (Between RUN) (n=20)

	Mean (µg/dL)	S.D. (µg/dL)	CV%
Sample I	376	5.6	1.48
Sample II	565	6.4	1.13

احتیاط در هنگام کار :

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلولها رعایت گردد و از وسایل حفاظت فردی استفاده شود.

دفع پسماند :

براساس دستورالعمل های وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی عمل شود .

نکات ایمنی و هشدارها:

از این کیت تنها برای مصرف در آزمایشگاههای تشخیص طبی میتوان استفاده نمود. در معرفهای این کیت از سدیم آزاید به عنوان ماده نگهدارنده (preservative) استفاده شده است. لذا به هیچ عنوان از دهان برای کار با پیپت استفاده نشود و از تماس مستقیم محلول ها با دست و چشم ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شسته شود. کلیه هشدارهای معمول آزمایشگاه، در هنگام کار با محلول ها رعایت گردد.

تداخلات :

بیلی روبین تا غلظت 25 mg/dl، تری گلیسیرید تا غلظت 1000 mg/dl و هموگلوبین تا غلظت 500 mg/dl، موجب تداخلی در نتیجه آزمایش نمی شوند.

توجه: نمونه های لیپمیک را با سرم فیزیولوژی به نسبت ۱ + ۲ (یک قسمت نمونه و دو قسمت سرم فیزیولوژی) رقیق نموده و جواب را در ۳ ضرب نمایید.

REFERENCES:

1. Baadenhuinjsen H et al. Modification in Ramsay's method for correct measurement of total iron-binding capacity. Clin. Chim1988:(175): 9-16.
2. Perrotta G. Iron and iron-binding capacity. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1063-1065.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

تهران ، میدان توحید ، خیابان توحید ، بن بست آزادی ، پلاک ۳ ، واحد ۱ **پشتیبانی فنی: ۶۶۵۹۶۳۸۸-۰۲۱**