

REF			
PT50545	[R1] 2 × 42 ml, [R2] 2 × 14 ml	Hitachi 911-912 Series	
PT50645	[R1] 2 × 60 ml, [R2] 2 × 20 ml	Hitachi 917	
PT10042	[R1] 1 × 75 ml, [R2] 1 × 25 ml	MPR	

# TIBC

## (Colorimetric Method)

### اهمیت بالینی:

انتقال آهن از یک اندام به اندام دیگر به وسیله پروتئین پلاسماپی آپوترانسفرین صورت می‌گیرد. این پروتئین که یک  $\beta$ -گلوبین با وزن مولکولی 75 kDa است دارای دو جایگاه اتصال به آهن می‌باشد، هر جایگاه می‌تواند 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 می‌یابد و امکان آزاد شدن آهن در درون اندام‌های سلولی را فراهم می‌سازد. کمپلکس آپوترانسفرین -  $Fe^{3+}$  را **ترانسفرین** می‌گویند. آهن موجود در سرم به ترانسفرین متصل می‌شود، اما از آنجایی که در حالت طبیعی تنها یک سوم (حدود 30٪-25) جایگاه‌های متصل شونده به آهن بر روی ترانسفرین به وسیله  $Fe^{3+}$  اشغال می‌شوند، این پروتئین دارای ظرفیت پرنشده قابل ملاحظه‌ای برای اتصال  $Fe^{3+}$  است. ظرفیت اشباع نشده اتصال به آهن ترانسفرین یا UIBC (Unsaturated Iron-Binding Capacity) نشان‌دهنده جایگاه‌های اتصال به آهن قابل دسترس (خالی) در سرم می‌باشد. ظرفیت اتصال آهن کل یا TIBC (Total Iron-Binding Capacity) بیانگر مقدار آهن مورد نیاز برای اشباع کردن کامل (100٪) ترانسفرین است، به عبارت دیگر TIBC حداکثر میزان آهنی است که می‌تواند به پروتئین‌های سرم بویژه آپوترانسفرین متصل شود. ترانسفرین در کبد ساخته می‌شود و غلظت پلاسماپی آن به وسیله سطح آهن تنظیم می‌شود، در کمبود آهن، سطح ترانسفرین افزایش یافته ولی درصد اشباع آن کاهش می‌یابد، برعکس در کم‌خونی‌های ناشی از بیماری‌های مزمن غلظت ترانسفرین ممکن است طبیعی بوده و یا کاهش یابد ولی درصد اشباع ترانسفرین افزایش می‌یابد. ترانسفرین جزء پروتئین‌های واکنشی منفی فاز حاد است به این معنی که در واکنش‌های التهابی حاد مختلف، سطح آن کاهش می‌یابد. میزان TIBC سرم در اختلالات مربوط به متابولیسم آهن متغیر است و غالباً در کمبود آهن افزایش یافته و در اختلالات التهابی مزمن، بدخیمی‌ها و هموکروماتوز کاهش می‌یابد.

### اساس 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 می‌شود. pH اسیدی معرف R1 باعث جدا شدن آهن از ترانسفرین می‌شود. آهن جدا شده با رنگ موجود در بافر یک کمپلکس رنگی تشکیل می‌دهد. 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 می‌شود که این امر باعث تغییر pH محیط واکنش می‌شود. این تغییر pH باعث افزایش شدید میل پیوندی ترانسفرین نسبت به آهن می‌شود. ترانسفرین با جدا کردن آهن از کمپلکس آهن - رنگ به سرعت به آن متصل می‌شود. میزان

کاهش مشاهده شده در جذب کمپلکس آهن - رنگ به طور مستقیم متناسب با ظرفیت تام اتصال آهن (TIBC) سرم دارد.

#### Step 1:

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

#### Step 2:

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

### محتویات کیت:

REF	PT50545	PT50645	PT10042
	[R1] 2 × 42ml	[R1] 2 × 60 ml	[R1] 1 × 75 ml
	[R2] 2 × 14ml	[R2] 2 × 20 ml	[R2] 1 × 25 ml

### ترکیب معرف‌ها:

معرف	اجزاء	غلظت
	بافر استات	----
[R1]	کرومازورول B	166 $\mu\text{mol/L}$
	ستریماید	735 $\mu\text{mol/L}$
	فریک کلراید	16 $\mu\text{mol/L}$
[R2]	سدیم آزاید	0.05٪
	سدیم بیکربنات	338 mmol/L
	سدیم آزاید	0.05٪

### 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 پیت استفاده نشود و از تماس مستقیم محلول‌ها با دست و چشم‌ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شسته شود. کلیه هشدارهای معمول آزمایشگاه، در هنگام کار با محلول‌ها رعایت گردد. در صورت نیاز به راهنمایی‌های ایمنی در خصوص هر یک از مواد (MSDS) می‌توانید با شرکت تماس حاصل فرمایید.

### شرایط نگهداری و پایداری معرف‌ها:

معرف‌ها در صورتی که در دمای  $8^\circ\text{C}$  -  $2^\circ\text{C}$  به دور از نور مستقیم نگهداری شوند تا پایان تاریخ انقضاء درج شده بر روی برجسب کیت پایدار و قابل استفاده خواهند ماند. از آلوده شدن معرف‌ها و نگهداری آنها در دمای انجماد یا در معرض نور مستقیم خودداری شود.

### آماده‌سازی معرف‌ها:

معرف‌های R1 و R2 به صورت آماده مصرف می‌باشند.

حساسیت (حداقل میزان قابل اندازه‌گیری):  
 حداقل میزان TIBC قابل اندازه‌گیری 70 µg/dL می‌باشد.

#### میزان دقت (Precision):

Intra-assay (n = 20)			
CV%	SD (µg/dL)	Mean (µg/dL)	
3/08	8/2	267	نمونه 1
1/49	4/42	295	نمونه 2

Inter-assay (n = 20)			
CV%	SD (µg/dL)	Mean (µg/dL)	
3/32	8/8	265	نمونه 1
1/57	4/7	299	نمونه 2

#### محدودیت‌ها و تداخلات:

بیلی‌روبین تا غلظت 25 میلی‌گرم در دسی‌لیتر، تری‌گلیسیرید تا غلظت 1000 میلی‌گرم در دسی‌لیتر و هموگلوبین تا غلظت 500 میلی‌گرم در دسی‌لیتر، موجب تداخلی در نتیجه آزمایش نمی‌شوند.

**توجه:** نمونه‌های لیپمیک را با سرم فیزیولوژی به نسبت 1 + 2 (یک قسمت نمونه و دو قسمت سرم فیزیولوژی) رقیق نموده و جواب را در 3 ضرب نمایید.

#### مقایسه روش‌ها (Accuracy):

از مقایسه بین کیت TIBC شرکت پیشتازطب (y) با یک کیت معتبر جهانی (x)، نتایج زیر به دست آمد:

$$y = 0.996x + 0.187, r = 0.988$$

#### دامنه مرجع:

سرم:	250-450 µg/dL (45-81 µmol/L)
بهبتر این است که هر آزمایشگاه با توجه به اطلاعات آماری بیمارانش دامنه مرجعی مختص به خود را تعیین نماید. برای اهداف تشخیصی نتایج این تست باید با تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته‌ها به‌طور همزمان بررسی شوند.	

#### منابع:

- 1- Burtis, C. A., et al, (2012), Tietz textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th edition, Elsevier.
- 2- Kasper L. D. et al, (2015), HARRISON'S Principles of Internal Medicine, 19th Edition, McGraw-Hill Education.
- 3- Goldman L. Et al, (2012), Cecil medicine, 24th Edition, Saunders
- 4- Bishop M. L. et al, (2013), Clinical chemistry: principles, techniques, and correlations, 7th Edition, Lippincott Williams & Wilkins.
- 5- Pagana K. D. Et al (2015), Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference, 12th Edition, Elsevier.

#### جمع آوری و نگهداری نمونه‌ها:

سرم تازه و بدون همولیز.

از پلاسما استفاده نشود.

سرم‌های مورد استفاده را در لوله‌های اسیدواش شده جمع‌آوری نمایید.

بیمارانی که با رژیم‌های حاوی آهن تحت درمان هستند حداقل 3 روز قبل از آزمایش باید از مصرف فرآورده‌های آهن خودداری نمایند.

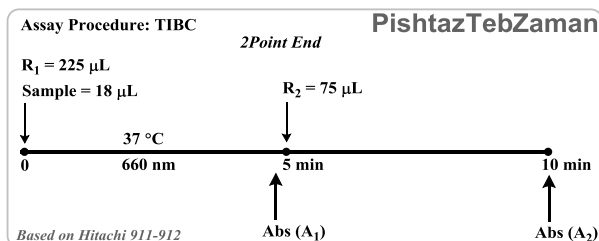
پایداری در نمونه‌ها:	
در دمای 15 - 30 °C	1 روز
در دمای 2 - 8 °C	4 روز
در دمای -20 °C	6 ماه

#### روش کار:

#### مواد و لوازم مورد نیاز:

- 1 - محلول‌های کار
- 2 - تجهیزات معمول مورد استفاده در آزمایشگاه
- 3 - کالیبراتور XL شرکت پیشتاز طب با شماره کاتالوگ PTCC6001 برای کالیبر کردن و کنترل‌های N و P شرکت پیشتاز طب به ترتیب با شماره کاتالوگ‌های PTC0001 و PTC0002، بصورت جداگانه جهت کنترل
- 4- سرم فیزیولوژی (محلول NaCl با غلظت 9 گرم در لیتر)

#### پارامترهای مورد نیاز برای انجام آزمایش:



Hitachi 911/912	
Mode	2Pointe End [10]
Temperature	37 °C
Main-wavelength	660 nm
Sub-wavelength	800 nm
Assay Points	[15][31]
Reaction direction	Decreasing
R1 reagent volume	225 µL
R2 reagent volume	75 µL
Sample volume	18 µL
Calibration Type	Linear [2][2]
SD Limit	0.1
Duplicate Limit	500

ضریب تبدیل واحد:

$$\mu\text{mol/L} = \mu\text{g/dL} \times 0.179$$

#### ویژگی و کارایی کیت:

#### دامنه اندازه‌گیری (Linearity):

این کیت توانایی اندازه‌گیری سطح TIBC در محدوده 70-600 µg/dL را دارا است. در غلظت‌های بالاتر نمونه را با سرم فیزیولوژی به نسبت 1 + 2 رقیق نموده و جواب را در 3 ضرب نمایید.