

FERRITIN (IRMA)

کیت تشخیصی رادیوایمونومتریک فریتین

مقدمه:

این پروتئین با اتصال به آهن نقش ذخیره سازی آهن در داخل سلول را برعهده دارد. در انسان فریتین پروتئینی است که به آهن اضافی بدن پیوند شده و در صورت نیاز آن را آزاد می‌کند. فریتین یک نوع پروتئین داخل سلولی می باشد که در همه جا حضور دارد و بصورت کنترل شده در رها سازی ذخیره آهن نقش دارد. همچنین از فریتین بعنوان یک علامت مهم در تشخیص اختلال های آهن بدن مانند (هماروماتوزیس و هموسیدروزیس) استفاده می شود. فریتین سرم یکی از نشانگرهای غیر مستقیم آهن توتال بدن بوده و از ارزیابی فریتین سرم برای تشخیص کم خونی فقر آهن استفاده می شود. میزان فریتین در بیماری های التهابی در اغلب اوقات افزایش دارد که همراه با افزایش CRP می باشد.

اساس روش اندازه گیری:

کیت رادیوایمونومتریک اسی سنجش *FERR* بر اساس واکنش غیر رقابتی تک مرحله ای می باشد. در این آزمایش از دو آنتی بادی *FERR* مونوکلونال بسیار اختصاصی با توانایی تشخیص دو ملکول اپیتوپ متفاوت استفاده می شود. یک آنتی بادی بصورت فاز جامد کوت شده در لوله و دیگری بعنوان *125 TRACER* استفاده می شود. هر دوی این آنتی بادی ها همزمان با آنتی ژن های *FERR* موجود در استاندارد، سرم کنترل و نمونه واکنش می دهند. مواد غیر اختصاصی در مرحله شستشو از واکنش خارج می شوند. میزان فرم اکتیویته موجود در لوله با غلظت *FERR* نمونه رابطه مستقیم دارد. استانداردهای *FERR* با غلظت مشخص همراه با نمونه های مجهول آزمایش می شوند که براساس منحنی استاندارد مقدار شمارش در مقابل غلظت *FERR* ، غلظت نمونه های مجهول بدست می آید.

محتویات کیت:

Kit Contents	Quantity (100T)
1. Coated Tubes Main: <i>FERRITIN</i> monoclonal Antibody	100 Tubes (50EA/Rack×2)
2. I 125 Tracer Main: <i>FERRITIN</i> monoclonal antibody Labelled with I 125 Diluent solution : BSA – PBS Preservative : Sodium Azide	20ml×1 vial Radioactivity 592 KBq (Ready to use)
3. Standards : Main: <i>FERRITIN</i> of each concentration (Range: 0, 5, 20, 50, 250, 500, 1000, 2000 ng/ml) Diluent solution : BSA – PBS Preservative : Sodium Azide	1 ml × 8 vials (Ready to use)
4. Serum Diluent Diluent Solution : BSA – PBS Preservative : Sodium Azide	12 ml × 1 vials (Ready to use)
5. Control Serum Main : 28.5 – 41.5 ng/ml of <i>FERRITIN</i> Diluent solution : BSA – PBS Preservative : Sodium Azide	1 ml × 1 vials (Ready to use)

نکات قابل توجه:

- در این کیت از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر *HBS AG* و *HIV* منفی می باشد.
- از استفاده مواد بعد از تاریخ انقضاء خود داری فرمائید.
- از مخلوط کردن با کیت های تاریخ گذشته اجتناب ورزید.
- درب ظروف را بدرستی بر روی ویال خود ببندید.
- از لباس و دستکش یکبار مصرف برای کار با مواد رادیو اکتیو استفاده کنید.

۶- لوازم آزمایشگاهی آلوده به مواد رادیو اکتیویته با وسیله روش های مراقبت در برابر اشعه و روش های ایمن شستشو و پسماند نمایید.

۷- معرف ها باید قبل از مصرف به دمای اتاق یا محیط برسند.

۸- هرگز محلول کیت هایی که دارای *LOT* متفاوتی هستند با هم مخلوط نکنید.

تهیه و جمع آوری نمونه:

این تست را می توان مستقیم بر روی نمونه های سرم انسانی یا پلاسما انجام داد. تأکید می شود، اگر آزمایش در طی ۲-۳ روز بعد از نمونه گیری انجام شود بهتر است در یخچال در دماهای ۲-۸ درجه سانتیگراد و اگر برای اهداف طولانی مدت ۱۵-۱۰ روز می باشد باید در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردد، از انجماد و ذوب مکرر خودداری شود. برای جلوگیری از ایجاد واکنش های تداخل گر برای هر تست از یک سمپلر استفاده کنید. معرف ها باید قبل از آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار بگیرند. بهتر است که برای انجام آزمایش بصورت دوبل یا دوتایی استفاده شود و از میانگین آنها به جواب صحیح برسید.

اثر هوک: زمانیکه نمونه های حاوی غلظت های بالای آنتی ژن *FERR* بصورت رقیق نشده با این روش آزمایش می شوند در اثر پدیده هوک مقادیر پائین تر از غلظت حقیقی بدست می آید. در این کیت پدیده هوک تا میزان 15000 ng/ml دیده نشد.

محاسبه نتایج:

- با استفاده از میانگین شمارش استانداردها (محور *Y*) و غلظت مشخص آنها (محور *X*) بر روی کاغذ میلیمتری ، منحنی استاندارد رسم کنید.
- میانگین شمارش برای هر نمونه را بدست آورید و روی محور *Y* جای آنرا پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی استاندارد وصل کنید. از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور *X* ها ایجاد می شود که بیانگر میزان غلظت نمونه است.

مقادیر طبیعی:

مقادیر طبیعی در سرم افراد نرمال که توسط آزمایش های مکرر به روش رادیوایمونومتریک اسی بدست آمده است به قرار زیر است:

Men = 16 -- 400 ng/ml Women = 9 – 89 ng/ml (Premenopausal)
Women = 10 – 168 ng/ml (menopausal)

حساسیت:

حداقل غلظت سرمی قابل اندازه گیری با این روش در مقایسه با استاندارد 0 میزان 0.022 ng/ml است.

اختصاصی بودن:

در این تست علامت مشخصی از واکنش متقاطع بین میزان بالای *CA 125* , *CA 15-3* , *PSA 19-9* , مشاهده نشده است.

دقت:

برای ارزیابی دقت تست اعم از تکرارپذیری و تولید دوباره (inter and intra Assay) روی ۳ سرم با غلظت مشخص *FERR* انجام می شود.

Sample	Intra assay		Inter assay		n
	Mean ± SD (ng/ml)	C.V (%)	Mean ± SD (ng/ml)	C.V (%)	
1	21.8 ± 1.20	5.53	21.7 ± 1.76	8.11	10
2	559.4 ± 23.64	4.23	626.2 ± 35.39	5.65	
3	1004.6 ± 25.43	2.53	1002.8 ± 31.54	3.15	

$$*C.V = S.D \text{ of sample (ng/ml)} / \text{Mean of sample (ng/ml)} \times 100$$

ریکاروری:

برای انجام ریکاروری دو نمونه سرم با غلظت مشخص را به سه استاندارد مختلف (250 – 20 – 500 ng/ml) اضافه می کنیم.

دو نمونه سرم : متوسط غلظت 100 ng/ml و غلظت بالا 500 ng/ml

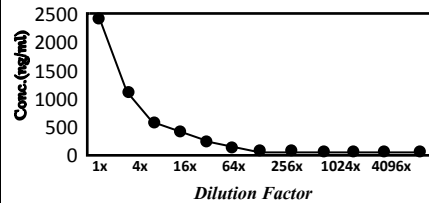
Sample (ng/ml)	Added (ng/ml)	Expected Value (ng/ml)	Calculated Value (ng/ml)	Recovery (%)
101.61	5	75.80	75.89	100.12
	250	175.80	178.15	101.34
	500	300.80	299.79	99.66
502.90	5	276.45	281.24	101.73
	250	376.45	379.56	100.83
	500	501.45	510.60	101.82

$$*Recovery(\%) = \text{Measured value (ng/ml)} / \text{Expected value (ng/ml)} \times 100$$

آزمایش خطی بودن:

با رقیق سازی یک نمونه سرم با محلول *BSA* به میزان 1/10 نتایج زیر بدست آمده است:

Dilution Factor	Conc. (ng/ml)
Undiluted	2350.1
1:2	1120.9
1:4	585.8
1:8	288.4
1:16	144.1
1:32	73.83
1:64	36.49
1:128	18.35
1:256	8.98
1:512	4.73
1:1024	2.25
1:2048	1.20
1:4096	0.59
1:8192	0.27



نمودار استاندارد:

برای محاسبه درصد اتصال رادیو اکتیویته کنترل، استاندارد و نمونه ها از فرمول زیر محاسبه می شوند:

DESCRIPTION	CPM	B/Bmax (%)	Conc. (ng/ml)
Total Activity	238429		
Std 1	0 ng/ml	294	0.14
Std 2	5.0 ng/ml	712	0.34
Std 3	20 ng/ml	2382	1.14
Std 4	50 ng/ml	5999	2.88
Std 5	250 ng/ml	27668	13.30
Std 6	500 ng/ml	60496	29.07
Std 7	1000 ng/ml	118036	56.85
Std 8	2000 ng/ml	208105	100
Control Serum	5900	2.84	49.18

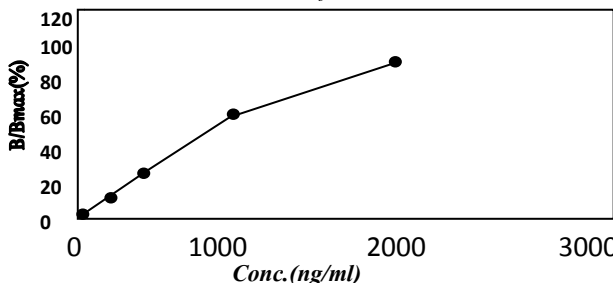
تبدیل واحد ها:

$$1 \text{ nmol/l} = 450 \text{ ng/ml}$$

$$1 \text{ ng/ml} = 2.22 \text{ pmol/l}$$

















$$1 \text{ ng/ml} \times 100 = \text{ng/dl}$$

Standard Curve for FERRITIN



References :

1. Sapir O et al, Maternal serum concentration of FERRITIN in second trimester pregnancy complicated by congenital fetal anomalies, Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 87(2): 133-6, 1999.
2. Yamao T et al, Tumor markers CEA, CA 19-9 and FERRITIN in monitoring of response to systemic chemotherapy in patients with advanced gastric cancer, Jpn J Clin Oncol, 29(11):550-5, 1999.
3. Camera A et al, Increased FERRITIN serum levels in patients with advanced acute leukemia with werosal involvement, Cancer, 18(1):75-8, 2000.
4. Zakrewska I et al, Significance of some tumor markers in differential diagnosis of ovarian tumor, Rocznik Akad Med Bialymst, 44:235-43, 1999.
5. Cherchi PL et al, The value of serum FERRITIN and associated FERRITIN/CA 19-9 in endometrial carcinoma. Eur J Gynaecol Oncol, 20(4):315-7, 1999.

	Used by		Batch code
	Temperature limitation		Control
	Store between 2-8 °C		
	Caution, consult accompanying documents		Standard
	Biological risk		Coated Tube
	Consult instructions for use		Tracer
	In vitro diagnostic medical device		Wash Buffer
	Manufacturer		Radioactive material
	Catalogue number		

آدرس کارخانه :

شهرک صنعتی اشتهارد - بلوار ابوриحان بیرونی - بلوار غزالی غربی - لادن ۲

- شرکت پادیاب طب

تلفن : ۰۲۶ - ۳۷۷۷۵۵۳۲-۹

فکس : 026 - 3777529

پشتیبانی فنی : ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸

دفتر مرکزی: تهران - ۲۴ متری سعادت آباد - خیابان یکم شرقی - خیابان شب

بو شرقی - پلاک ۱۷ - طبقه ۲

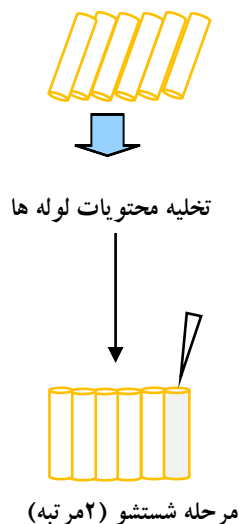
آدرس اینترنتی : www.padyabteb.com

ایمیل شرکت : info@padyabteb.com



شرکت پادیاب طب
تلفن سوالات فنی :

۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸



۵ ابتدا محتویات لوله تخلیه
سپس شستشو با حجم 2cc
آب مقطر در ۲ نوبت با ثابت
نگهداشتن به مدت ۲ دقیقه
انجام شود.

(به جز لوله توتال).

۶ با استفاده از دستگاه
گاما کانتور ظرف مدت ۱ دقیقه
اکتیویته موجود در لوله ها
خوانده می شود.



یادآوری:

در نمونه‌های با غلظت بالا از serum diluent به نسبت ۱/۱۰ استفاده
شود (هنگام محاسبه غلظت ضریب رقت در نظر گرفته شود).

روش کار :

لوله توتال



لوله های Coat شده

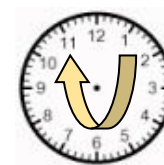
۱ تعداد لوله های کوت شده
را برای استاندارد، کنترل و نمونه
دوبل یا دوتایی قرار دهید. برای
شمارش تام از لوله های معمولی
استفاده می شود.

۲ 25λ از استانداردها، کنترل و نمونه
استاندارد، کنترل و نمونه
سر و نمونه بیمار را به داخل هر
لوله اضافه می کنیم.
(به جز لوله توتال).

۳ 200 λ از ردیاب یا Tracer
200 λ Tracer
را به تمام لوله ها اضافه می کنیم.



۴ حبابگیری: لوله ها را به آرامی
به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده تا
محتویات به خوبی مخلوط شوند و
سپس لوله ها را به مدت ۶۰ دقیقه در
حرارت اتاق بر روی شیکر 200 rpm
انکوبه نمایید. (به جز لوله توتال)



۶۰ دقیقه بر روی شیکر 200 RPM