مجلهٔ غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
سال چهارم، شمارهٔ ۴، صفحه‌های ۲۶۱ ـ ۲۵۵ (زمستان ۱۳۸۱)

مقالهٔ پژوهشی

ارزیابی اولین کیت تولید شده در جمهوری اسلامی ایران برای اندازه‌گیری TSH با روش IRMA بر روی کاغذ فیلتر: طرح غربالگری کم‌کاری مادرزادی تیروئید

دکتر رضا نجفی اسداللهی[۱]، مسعود محرم‌زاده[۱]، دکتر عباس اولیا[۱]، دکتر آرش اردوخانی[۲]، موسی پورعبدی[۱]، بهزاد مهدیانی[۱]، دکتر مهدی هدایتی[۲]، پروین میرمیران[۲]، دکتر رامبد حاجی‌پور[۲]، دکتر حسین غفوریان[۱]، دکتر فریدون عزیزی[۲]

چکیده

مقدمه: تولید کیت اندازه‌گیری TSH بر روی نمونه‌های خون خشک شده بر کاغذ فیلتر (کیت TSH نوزادان) در داخل کشور از گام‌های اولیه و اساسی در ملی نمودن طرح غربالگری کم‌کاری مادرزادی تیروئید محسوب می‌گردد. هدف این مقاله بررسی کیفیت اولین کیت تولید شده در جمهوری اسلامی ایران است. مواد و روش‌ها: از اسفند ۱۳۷۶ تا خرداد ۱۳۸۰ (۴۰ ماه) نمونه‌های خون خشک شده بر کاغذ فیلتر از ۸ بیمارستان و یک مرکز تسهیلات زایمانی در تهران و دماوند جهت اندازه‌گیری TSH به مرکز تحقیقات غدد ارسال شد. مقادیر TSH با روش two-site IRMA با استفاده از کیت‌های تهیه شده بر اساس دستورالعمل شرکت NETRIA در سازمان انرژی اتمی ایران اندازه‌گیری شد. اعتبار شامل دقت (آزمون‌های درون و برون‌سنجش)، صحت (آزمون بازیابی)، حساسیت و ویژگی روش مورد ارزیابی قرارگرفت. همچنین، اختلاف مقادیر TSH ۴۱ نمونه بندناف (نمونه‌گیری تصادفی) با استفاده از دو کیت حاضر و کیت DRG (ELISA) مقایسه و همبستگی بین مقادیر به دست آمده محاسبه شد. یافته‌ها: در طول اجرای طرح غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان، مقادیر TSH ۲۰۱۰۷ نمونهٔ خون خشک شدهٔ بندناف اندازه‌گیری شد. سه نوزاد هیپوتیروئید دارای TSH بندناف مرزی (بین mIU/L ۳۵-۲۳) بودند. بر اساس 2SD از میانگین ۱۰ تکرار استاندارد صفر، حساسیت روش mIU/L ۱ محاسبه گردید. ضریب تغییرات (CV%) برای غلظت‌های mIU/L ۳، ۲۳، ۴۵ و ۸۲ به ترتیب برابر ۱۰/۷، ۸/۷، ۹/۴ و ۹/۶ (درون سنجش) و ۱۲/۲، ۹/۱، ۱۰/۲ و ۱۱/۱ (برون سنجش) به دست آمد. در آزمون بازیابی نسبت غلظت‌های تیروتروپین اندازه‌گیری شده (mIU/L ۱۳، ۳۶ و ۶۹) به غلظت‌های مورد انتظار (mIU/L ۱۲، ۳۲ و ۶۳) به ترتیب عبارت از ۱۰۸، ۱۱۲ و ۱۰۹٪ بود. ویژگی روش برای TSH، LH، hCG، FSH، PRL و GH به ترتیب ۱۰۰، ۰/۰۰۵>، ۰/۰۰۵>، ۰/۰۰۳>، ۰/۰۱> و ۰/۰۲> درصد بود. قدر مطلق اختلاف مقادیر TSH به دست آمده از دو کیت حاضر و DRG در ۹۵٪ موارد کمتر از mIU/L ۱/۵ بود و همبستگی به دست آمده معنی‌دار بود (r =۰/۹۶ و p<۰/۰۰۱). نتیجه‌گیری: عملکرد کیت مذکور به منظور شناسایی هیپوتیروئیدی نوزادان در غربالگری کم‌کاری مادرزادی تیروئید به ویژه در غلظت‌های پایین بندناف بر اساس یافته‌های طرح غربالگری و همچنین داده‌های روش شناسی ارایه شده قابل قبول است.

واژگان کلیدی: تیروتروپین، بندناف، غربالگری نوزادان، کیت تشخیصی، IRMA

(۱) بخش رادیوایزوتوپ، سازمان انرژی اتمی ایران
(۲) مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
نشانی مکاتبه: تهران، اوین،

مقدمه

غربالگری کم‌کاری مادرزادی تیروئید (با شیوع ۱ در هر ۴۰۰۰-۳۵۰۰ تولد) از حدود سه دهۀ گذشته آغاز شده است.[۱،۲] بسیاری از کشورهای جهان اندازه‌گیری TSH را به

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-06-26]

عنوان آزمون اولیه انجام می‌دهند.[۳] هزینهٔ آزمون‌های اولیه در بررسی سود ـ هزینه که از شاخص‌های ارزیابی قابل اجرا بودن یک برنامهٔ غربالگری است،[۴] بسیار مهم است. امکان استفاده از نمونه‌های خون خشک شده بر روی کاغذ فیلتر به جای سرم[۵،۶] و بهبود روش‌های اندازه‌گیری TSH از RIA به IRMA باعث تسهیل در انجام غربالگری کم‌کاری مادرزادی تیروئید در چند دههٔ گذشته شده است.[۷،۸]

اولین مطالعات انجام شده در ایران بر روی نمونه‌های سرمی انجام شد.[۹،۱۰] یکی از اولین گام‌ها به سوی ملی شدن طرح مذکور، تولید کیت‌های اندازه‌گیری TSH بر روی کاغذ فیلتر در داخل کشور بود. آژانس بین المللی انرژی اتمی[i] با هدف گسترش فناوری مناسب در کشورهای در حال توسعه،[۱۱] پروژهٔ RAW/6/003 را در سال ۱۳۷۴ در برخی از کشورهای منطقه از جمله جمهوری اسلامی ایران، اردن، سوریه، قزاقستان، لبنان و یمن در چند مرحله به اجرا درآورد. در این پروژه و با همکاری شرکت NETRIA انگلستان فناوری و مراحل ساخت کیت‌های اندازه‌گیری TSH بر روی نمونهٔ خون خشک شده بر کاغذ فیلتر آموزش داده شد.[۱۲-۱۴] از تیر تا بهمن ۱۳۷۶، بررسی اولیهٔ کنترل کیفی کیت اندازه‌گیری TSH بر روی کاغذ فیلتر توسط مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و سازمان انرژی اتمی ایران انجام شد و از اسفند ۱۳۷۶ طرح تحقیقات ملی غربالگری کم‌کاری مادرزادی تیروئید به اجرا در آمد.[۱۵،۱۶] هدف از این مقاله، معرفی و ارزیابی کیت مذکور در بزرگترین فعالیت غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان در جمهوری اسلامی ایران تا کنون است.

مواد و روش‌ها

دستگاه‌ها:

برای توزین مواد از ترازوی آنالیتیک سارتوریوس[ii]، برای تنظیم اسیدیتهٔ محلول‌ها از pH متر متلر[iii] و جهت خوانش رادیواکتیویته از شمارشگر گامای والاک[iv] استفاده شد.

معرف‌ها و محلول‌ها:

تمامی مواد مورد استفاده از شرکت مرک با خلوص بالا تهیه شد. از آب دو بار تقطیر برای محلول سازی استفاده شد.

محلول ذخیرهٔ بافر فسفات (۰/۵ مولار با اسیدیته ۷/۴): این محلول از حل کردن ۵۷/۱ گرم Na_2HPO_4 و ۱۵/۳ گرم از $NaH_2PO_4.2H_2O$ در یک لیتر آب مقطر تهیه گردید.

محلول ۳ مولار کلرید سدیم

بافر سنجش[v]: این بافر حاوی ۵ میلی‌لیتر از محلول ذخیرهٔ بافر فسفات ۰/۵ مولار، ۵ میلی‌لیتر محلول ۳ مولار کلرید سدیم، ۱ میلی‌لیتر محلول ۱۰٪ آزید سدیم، ۱ گرم پودر آلبومین سرم گاوی و ۰/۰۷ گرم پودر گاما گلوبولین گاوی در صد میلی‌لیتر بود.

محلول شستشو[vi]: این محلول حاوی ۵۰ میلی‌لیتر از محلول ذخیرهٔ بافر فسفات ۰/۵ مولار، ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۳ مولار کلرید سدیم، ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰٪ آزید سدیم و ۱ میلی‌لیتر محلول ۱۰٪ تریتون ایکس ۱۰۰ در یک لیتر آب مقطر بود.

ید رادیواکتیو (^{125}I): ید رادیواکتیو از کمپانی NORDION بلژیک تهیه شد.

آنتی‌بادی اول و دوم: آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد TSH از کمپانی SkyBio انگلستان تهیه شد.

استاندارد **TSH**، **FSH**، **LH**، **PRL**، **hCG** و **GH**: برای تهیهٔ محلول‌های استاندارد، هورمون‌های مذکور از کمپانی سیگما (Sigma-Aldrich Inc., Germany) تهیه شده اند.

پوشش دادن گویچه‌های پلی استیرنی با آنتی‌بادی[vii]

گویچه‌ها از جنس پلی‌استیرن و ساخت شرکت Kramel Biotech انگلستان بودند. برای پوشش دادن آنها با آنتی‌بادی ضد TSH، ابتدا گویچه‌ها به مدت ۷۲ ساعت با پروتئین APE[viii] و سپس به مدت ۲۴ ساعت با محلول مسدودکنندهٔ[ix] ۱٪ Byco A مجاور شدند. پس از شستشو با محلول فسفات بافر سالین (PBSX) و اضافه نمودن محلول آنتی‌بادی دوم[x] به مدت ۲۴ ساعت، گویچه‌ها با محلول PBSX شستشو داده

i- International Atomic Energy Agency
ii- Sartorius
iii- Metler
iv- Wallac

v- Assay buffer
vi- Wash buffer
vii- Coating of polystyrene beads with antibody
viii- Affinity protein enhancer
ix- Blocker
x- Second antibody

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-06-26]

شدند و محلول آنتی‌بادی اولیه[i] به آنها اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت، گویچه ها با محلول PBSX شستشو داده شدند و مدت ۱ ساعت در مجاورت با محلول ۲٪ لاکتوز قرار گرفتند. سپس، گویچه‌ها با دستگاه فریز درایر[ii] خشک و همراه با سیلیکاژل بسته بندی شدند.

نشاندار کردن آنتی‌بادی منوکلونال ***TSH***

این کار با روش کلرامین-T در آزمایشگاه مخصوص انجام شد. ۵ μL محلول ۱۰ mg/mL (۵۰ μg) از آنتی‌بادی منوکلونال TSH با ۰/۵ mCi محلول یدید سدیم رادیواکتیو ($Na^{125}I$) در مجاورت کلرامین-T نشاندار گردید. برای خلوص آن از ستون کروماتوگرافی سفادکس G-25 استفاده شد. نسبت آنتی‌بادی TSH نشاندار به رادیواکتیویتهٔ اولیه، نشان دهندهٔ میزان بازدهی[iii] نشاندارسازی به میزان بیش از ۹۰٪ بود و اکتیویتهٔ ویژهٔ آن[iv] در حدود ۱۰ μCi/μg پروتئین محاسبه گردید. آنتی‌بادی TSH نشاندار تولید شده جهت استفاده برای ۱۰۰ آزمون به میزان ۱۰ μCi/mL رقیق شد.

تهیهٔ استانداردهای کاغذ فیلتری[v]:

با توجه به حداقل بودن واکنش متقاطع[vi]، از گلبول قرمز شسته شده خون اسب به عنوان ماتریکس برای استانداردهای مختلف TSH (۲۰۰ mIU/L، ۱۰۰، ۵۰، ۲۰، ۱۰، صفر) استفاده شد. ابتدا با استفاده از روش استاندارد "International Reference Preparation"، استاندارد شمارهٔ ۶ (غلظت ۲۰۰ mIU/L) تهیه و با روش رقیق‌سازی استانداردهای دیگر آماده گردید. با استفاده از نمونه‌بردار اتوماتیک، ۳۰ میکرولیتر از هر کدام از استانداردها بر روی کاغذ فیلتر Whatman BFC 180 ریخته و پس از خشک شدن در بسته‌بندی مناسب همراه با سیلیکاژل در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

گرداوری و نگهداری نمونه‌ها

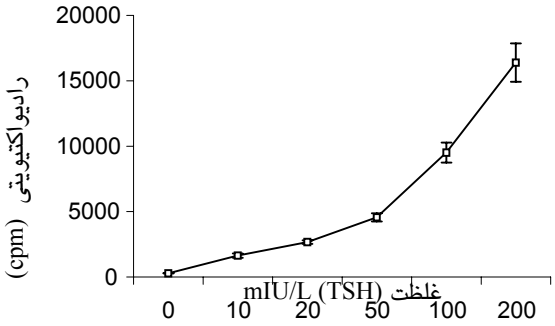
از اسفند ۱۳۷۶ تا خرداد ۱۳۸۰ نوزادان متولد شده در ۸ بیمارستان و یک مرکز تسهیلات زایمانی در شهر تهران و شبکهٔ بهداشت و درمان دماوند از نظر میزان TSH در آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم ارزیابی شدند. نمونه‌ها شامل قطرات خون بندناف اضافه شده بر روی کاغذ فیلتر از نوع Whatman BFC 180 بودند که توسط پرسنل آموزش دیده گرداوری و تحت شرایط استاندارد خشک و با استفاده از کیف‌های زیپ‌دار و در عرض ۷ روز از زمان نمونه‌گیری به آزمایشگاه انتقال داده شده بودند.[۱۷-۱۹] نمونه‌ها در مراکز زایمانی در ظروف دردار و در آزمایشگاه در دمای ۸-۲ درجهٔ سانتیگراد نگهداری شدند. نگهداری نمونه‌ها در آزمایشگاه برای مدت طولانی‌تر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. نوزادان با TSH ≥ ۲۰ mIU/L غیرطبیعی محسوب و برای تشخیص قطعی به مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز فراخوان شدند. جزئیات اقدامات تشخیصی بعدی بر روی نوزادان با TSH بندناف غیرطبیعی به منظور کشف موارد با هیپوتیروئیدی در گزارش‌های قبلی آمده است.[۱۵،۱۶]

اندازه‌گیری غلظت ***TSH*** بر روی کاغذ فیلتر[vii]

برای به حداقل رساندن تورش های بین فردی، همهٔ مراحل زیر توسط دو نفر کارشناس آموزش دیده انجام گرفت: ابتدا لوله‌های آزمایش پلاستیکی (۷۵ mm × ۱۲) به صورت دوتایی برای نمونه‌ها، استانداردها و کنترل‌ها نشانه‌گذاری شدند. به هر کدام از لوله‌ها یک پانچ ۶ میلی‌متری از کاغذ فیلتر حاوی خون خشک شده (دیسک فیلتری) شامل استانداردها، کنترل‌ها و نمونه‌ها اضافه گردید. به لوله‌ها ۳۰۰ میکرولیتر از محلول سنجش حاوی آنتی‌بادی نشاندار شده با ^{125}I اضافه و پس از ۳۰ ثانیه تکان دادن به هر کدام از لوله‌ها یک گویچهٔ پلی‌استیرنی که با آنتی‌بادی ضد TSH پوشش داده شده بود، اضافه گشت. لوله‌ها به مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس، با ۲ میلی‌لیتر محلول شستشو، لوله‌ها و گویچه‌ها شسته شدند و کاغذ فیلتر خارج گردید. گویچه‌ها دوبار دیگر با ۲ میلی‌لیتر محلول شستشو، شسته شدند. خارج کردن محلول شستشو توسط دستگاه مکنده انجام گرفت. با شمارش میزان رادیواکتیویتهٔ لوله‌های حاوی گویچه، منحنی استاندارد توسط گاماکانتر رسم و غلظت نمونه‌ها بر اساس آن سنجیده شد. در نمودار (۱) نمونه‌ای از منحنی استاندارد مشاهده می‌گردد.

i- First antibody
ii- Freeze-drier
iii- Efficiency
iv- Specific activity
v- Dried blood spot standards
vi- Cross reaction
vii- Filter paper TSH assay

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-06-26]



نمودار ۱ـ منحنی استاندارد تهیه شده از داده‌های دیسک‌های کاغذ فیلتر حاوی غلظت‌های مختلف **TSH**

مقایسهٔ مقادیر ***TSH*** خون خشک شدهٔ بندناف بر کاغذ فیلتر با استفاده از کیت حاضر با کیت ***DRG*** (***ELISA***) آلمان

مقادیر TSH به دست آمده با روش حاضر از ۴۱ نمونهٔ خون خشک شدهٔ بندناف انتخاب شده به صورت تصادفی، با مقادیر به دست آمده از همان نمونه‌ها با استفاده از کیت DRG آلمان (ELISA) مقایسه شد. روش اندازه‌گیری TSH از نمونهٔ خون خشک شده بر روی کاغذ فیلتر با کیت DRG در دستورالعمل کمپانی سازنده آمده است. قدر مطلق اختلاف بین مقادیر TSH به دست آمده توسط دو کیت محاسبه شد. همچنین، به علت چوله بودن توزیع TSH، لگاریتم طبیعی آن محاسبه و طبیعی بودن توزیع آن با آزمون کولموگرف ـ اسمیرنف ارزیابی شد. ضریب همبستگی بین مقادیر تبدیل شده با آزمون همبستگی پیرسون محاسبه گردید. نرم‌افزار آماری مورد استفاده SPSS بود.

یافته‌ها

الف) بررسی اعتبار روش[i]

دقت روش: بر اساس آزمون‌های درون‌سنجش و برون سنجش دقت آزمون ارزیابی شد. استانداردهای مورد نظر به کاغذ فیلتر اضافه شد و سپس نمونه‌ها در معرض هوا خشک شدند. نتایج حاصل در جدول (۱) آورده شده است.

صحت روش[ii]: در آزمون بازیابی به منظور بررسی صحت روش، نسبت غلظت‌های TSH مورد انتظار ۱۲ mIU/L، ۳۲ و ۶۳ (حاصل اضافه نمودن ۲ mIU/L، ۲۲ و ۵۳ از TSH به استاندارد ۱۰ mIU/L) به غلظت‌های اندازه‌گیری شده به ترتیب ۱۳ mIU/L، ۳۶ و ۶۹، به ترتیب برابر با ۱۰۸، ۱۱۲ و ۱۰۹٪ بود. آزمون های فوق هرکدام ۱۰ بار تکرار شدند.

حساسیت روش[iii]: بر اساس 2SD از میانگین ۱۰ تکرار استاندارد صفر، حساسیت روش ۱ mIU/L محاسبه گردید.

ویژگی[iv]: ویژگی آنتی‌بادی‌ها بر اساس نسبت سیگنال‌ها در غلظت برابر محاسبه شد. نسبت cpm (count per minute) مربوط به ۲۰۰ mIU/L از مولکول مشابه مورد بررسی به cpm مربوط به ۲۰۰ mIU/L از TSH در عدد صد، میزان درصد واکنش متقاطع (یا ویژگی) را به دست داد. ویژگی برای TSH، LH، hCG، FSH، PRL و GH به ترتیب ۱۰۰، ۰/۰۰۵ >، ۰/۰۰۵ >، ۰/۰۰۳ >، ۰/۰۱ > و ۰/۰۲ > درصد بود.

ب) مقایسهٔ کیت حاضر با کیت ***DRG*** (***ELISA***) آلمان

قدر مطلق اختلاف مقادیر TSH اندازه‌گیری شده توسط دو کیت در ۹۵٪ موارد کمتر از ۱/۵ mIU/L بود. لگاریتم طبیعی مقادیر TSH به دست آمده از دو کیت توزیع نرمال داشتند و ضریب همبستگی بین آنها ۰/۹۶ بود ($p<0/001$).

ج) نتایج حاصل از غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان

۲۰۱۰۷ نمونهٔ خون خشک شدهٔ بندناف گرداوری و از لحاظ میزان TSH ارزیابی شد. توزیع مقادیر TSH اولیه در گزارش‌های قبلی آمده است.[۱۵،۱۶] سه نوزاد با کم‌کاری مادرزادی تیروئید دارای مقادیر TSH بندناف به ترتیب ۲۳ mIU/L، ۳۳ و ۳۵ بودند.

بحث

در این مطالعه کیفیت اولین کیت اندازه‌گیری مقادیر TSH خون خشک شده بر کاغذ فیلتر با روش two-site IRMA تولید شده در سازمان انرژی اتمی ایران بررسی شد. نتایج به دست آمده دال بر قابل قبول بودن کیفیت کیت مذکور در غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان بود. این مدعا مبتنی بر دقت، صحت، حساسیت و ویژگی روش اندازه‌گیری مذکور

i- Method validation

ii- Accuracy
iii- Sensitivity
iv- Specificity

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-06-26]

جدول ۱ـ آزمون درون و برون سنجش کیت اندازه‌گیری مقادیر TSH بر کاغذ فیلتر*

میانگین (mIU/L)	درون سنجش		برون سنجش	
	SD	CV(%)	SD	CV(%)
۳	۰/۰۰۳۲۱	۱۰/۷	۰/۰۰۳٦٦	۱۲/۲
۲۳	۰/۰۲۰۰۱	۸/۷	۰/۰۲۰۹۳	۹/۱
٤٥	۰/۰٤۲۳	۹/٤	۰/۰٤٥۹	۱۰/۲
۸۲	۰/۰۷۸۷۲	۹/٦	۰/۰۹۱۰۲	۱۱/۱

* دفعات تکرار در همهٔ غلظت‌ها برابر ۱۲ بوده است.

است. مقادیر به دست آمده از اندازه‌گیری TSH با استفاده از کیت حاضر در مقایسه با کیت استاندارد، حاکی از کیفیت مطلوب روش اندازه‌گیری کیت سازمان انرژی اتمی ایران بود. این کیت که بر اساس راهکار (دستورالعمل) شرکت NETRIA انگلستان تهیه شده است، در یکی از مهمترین اهداف طرح غربالگری یعنی شناسایی نوزادان هیپوتیروئید عملکرد قابل قبولی داشت.[۱٦] هیپوتیروئیدی نوزادان در اکثر موارد با مقادیر بالای TSH اولیه و در موارد کمتری با مقادیر غیرطبیعی در حد مرزی (۳۵–۲۰ mIU/L) همراه است و افزایش TSH در آنها با تأخیر صورت می‌گیرد.[۲۲-۲۰]

کیت مورد استفاده در مطالعهٔ حاضر، سه مورد هیپوتیروئیدی نوزادان با مقادیر مرزی TSH بندناف را شناسایی نمود.[۱٦] در نتیجه، عملکرد کیت مورد استفاده در مطالعهٔ حاضر، برای شناسایی هیپوتیروئیدی در محدودهٔ بالا و پایین TSH اولیهٔ غیرطبیعی قابل قبول است. البته باید اذعان داشت که به دلیل امکان‌پذیر نبودن شناسایی موارد منفی کاذب (نوزادان هیپوتیروئیدی که در آزمون اولیه، دارای TSH بندناف طبیعی بوده‌اند) در برنامهٔ غربالگری حاضر، نمی‌توان در ارتباط با توانایی کیت مذکور در این زمینه اظهار نظر نمود.

مقادیر TSH از شاخص های بسیار حساس در شناسایی وجود یا عدم وجود هیپوتیروئیدی اولیه است.[۲۰] تقریباً تمامی کشورهای اروپایی (به جز هلند) و ژاپن از اندازه‌گیری اولیهٔ TSH به عنوان روش غربالگری استفاده می کنند.[۲۱] در چند دههٔ اخیر، روش‌های اندازه‌گیری TSH بهبود یافته و روش‌های قدیمی‌تر جای خود را به روش‌های حساس‌تر و ویژه‌تر ایمونومتریک[i] داده[۲۵-۲۳] و در بسیاری از مطالعات غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان از روش IRMA استفاده شده است.[۲٦،۲۷] با توجه به یافته‌های مطالعه، ویژگی کیت مورد استفاده نیز در حد مطلوب بود. از مزایای دیگر روش مورد استفاده در مطالعهٔ حاضر، می‌توان به عدم نیاز به نمونه‌گیری از ورید[ii]، عدم نیاز به سانتریفوژ نمودن، شرایط حمل و نقل ساده، شرایط نگهداری آسان و در حجم بالا و پایداری بلند مدت نمونه‌های اولیه اشاره نمود. از محدودیت‌های روش مذکور می‌توان به حساسیت و قدرت تمایز نقاط به میزان ۱ mIU/L اشاره نمود که بدین ترتیب حدنصاب فراخوان بین غلظت‌های ۲۱–۱۹ mIU/L قرار داشت. علاوه بر روش‌های Radio-labeled، از روش‌های دیگر تولید علامت و شناسایی (Signal generation and detection systems) از جمله روش‌های Enzyme-labeled، Fluorescent-labeled و Chemiluminescent-labeled نیز در غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان استفاده شده است.[۲۸،۲۹] دو روش اخیر، به نسبت روش‌های ایمونورادیومتریک و آنزیمی، حساس‌تر ولی گران‌ترند. در غربالگری کم‌کاری مادرزادی تیروئید که نوزادان مبتلا در زمان تشخیص دارای مقادیر بالایی از TSH می‌باشند، نیاز به استفاده از روش‌های بسیار حساس نیست.

طرح‌های غربالگری علاوه بر کشف و درمان به موقع نوزادان هیپوتیروئید، رهاوردهای دیگری را نیز به همراه دارند.[۳۰] از رهاوردهای طرح حاضر، ایجاد زمینهٔ مناسب

i- Immunometric
ii- Venipuncture

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-06-26]

برای تهیه و بررسی کنترل کیفی کیت‌های اندازه‌گیری TSH بر کاغذ فیلتر بود. همکاری مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و سازمان انرژی اتمی ایران به اولین گام موفقیت‌آمیز در زمینهٔ خودکفایی در ارتباط با تولید کیت‌های مذکور به منظور غربالگری هیپوتیروئیدی نوزادان در جمهوری اسلامی ایران منتهی گشت. گام بعدی، در پی حمایت سازمان‌های ذی‌ربط، گسترش طرح به سایر مناطق و تولید انبوه کیت‌های مذکور جهت پوشش‌دهی مناسب طرح خواهد بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری کارشناسان آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، سرکار خانم فرجی و میکائیلی که در اندازه‌گیری مقادیر TSH نمونه‌های کاغذ فیلتر نهایت دقت و پشتکار را نشان دادند، قدردانی می‌گردد. این پروژهٔ تحقیقاتی از طریق طرح ملی تحقیقات شمارهٔ ۱۱۵ (NRCI 115) و با حمایت شورای پژوهش‌های علمی کشور انجام یافته است.

References

1. Brown RS. The thyroid gland. In: Brook CGD, Hindmarsh PC, editors. Clinical Pediatric Endocrinology 4th ed. Oxford: Blackwell Science Ltd. 2001. p. 288-320.
2. Fisher DA, Dussault JH, Foley TP Jr, Klein AH, LaFranchi S, Larsen PR, et al. Screening for congenital hypothyroidism: results of screening one million North American infants. J Pediatr. 1979; 94:700-5.
3. Dussault JH. Screening for congenital hypothyroidism. Clin Obstet Gynecol. 1997; 40:117-23.
4. Hannon H, Therrell B. General principles for the formulation of national programmes for congenital hypothyroidism screening in developing countries. Guidelines on the prevention and control of congenital hypothyroidism. Geneva, World Health Organization, 1991. (Document WHO/HDP/CON.HYPO/GL/90.4).
5. Dussault JH, Laberge C. Thyroxine (T4) determination by radioimmunological method in dried blood eluate: new diagnostic method of neonatal hypothyroidism? Union Med Can. 1973; 102:2062-4.
6. Dussault JH, Parlow A, Letarte J, Guyda H, Laberge C. TSH measurements from blood spots on filter paper: a confirmatory screening test for neonatal hypothyroidism. J Pediatr. 1976; 89:550-2.
7. Larsen PR, Merker A, Parlow AF. Immunoassay of human TSH using dried blood samples. J Clin Endocrinol Metab. 1976; 42:987-90.
8. Medvei VC. The History of Clinical Endocrinology. A comprehensive account of endocrinology from earliest times to the present day. New York: The Parthenon Publishing Group; 1993. p. 365-400.
۹. عزیزی فریدون، اولادی بلقیس، نفرآبادی ماه‌طلعت، حاجی‌پور رامبد. غربالگری برای شناسایی کم‌کاری مادرزادی تیروئید در تهران: اثر کمبود ید در افزایش گذرای TSH در نوزادان. مجلهٔ دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۱۳۷۳؛ سال ۱۸، شمارهٔ ۱، صفحات ۳۸-۳۴.
10. Karamizadeh Z, Amirhakimi GH. Incidence of congenital hypothyroidism in Fars Province, Iran. Iran J Med Sci 1992; 17: 78-80.
۱۱. پستا حسن. در ترجمهٔ فرهنگ روابط بین‌الملل، پلینو ج سی، آلتون ر (مؤلفین). چاپ چهارم. تهران: فرهنگ معاصر، ۱۳۷۵، صفحات ٤٠٥-٦.
12. IAEA regional training course on reagent production methods for neonatal hypothyroid screening by RIA, 6-10 July, 1996, Damascus, Syria.
13. Edwards R, editor. Immunoassay. Essential data (NETRIA). Chichester: John Wiley & Sons: 1996.
14. Screening of newborns for thyroid deficiency (RAW/6/003 Project). Division of Human Health. NAHU. International Atomic Energy Agency (IAEA). Available from: URL: http://www.naweb.iaea.org/nahu/external/e1/TCProj.asp
15. Ordookhani A, Mirmiran P, Hajipour R, Hedayati M, Azizi F. Screening for congenital hypothyroidism: strategies, obstacles, and future perspectives. East Mediterr Health J, In Press
١٦. اردوخانی آرش، هدایتی مهدی، میرمیران پروین، حاجی‌پور رامبد، عزیزی فریدون. شیوع بالای هیپوتیروئیدی نوزادان در تهران: نیاز برای ملی نمودن طرح غربالگری کم‌کاری مادرزادی تیروئید. مجلهٔ غدد درون ریز و متابولیسم ایران، ۱۳۷۹؛ شماره ۴، صفحات ۲۷۶-۲۶۳.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Blood collection on filter paper for neonatal screening programs. Approved Standard – NCCLS document LA4-A3, 3rd ed. Villanova, PA: NCCLS publication: 1997.
18. American Academy of Pediatrics AAP Section on Endocrinology and Committee on Genetics, and American Thyroid Association Committee on Public Health: Newborn screening for congenital hypothyroidism: recommended guidelines. Pediatrics. 1993; 91:1203-9.
19. Wisconsin Newborn Screening. Wisconsin State Laboratory of Hygiene. Available from: URL: http://www.slh.wisc.edu/newborn/
20. Fisher DA. Disorders of the thyroid in the newborn and infant. In: Sperling MA, editor. Pediatric Endocrinology. 1st ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1996: p. 51-70.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-06-26]

21. Delange F. Neonatal screening for congenital hypothyroidism: results and perspectives. Horm Res. 1997; 48:51-61.
22. Daliva AL, Linder B, DiMartino-Nardi J, Saenger P. Three-year follow-up of borderline congenital hypothyroidism. J Pediatr. 2000; 136:53-6.
23. DiGeorge AM, LaFranchi S. Disorders of the thyroid gland. In: Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. 15th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1996: p. 1587-95.
24. Wild D. Thyroid. In: Wild D, editor. The Immunoassay Handbook. London: Macmillan Press Ltd; 1994: p. 323-44.
25. Davis C. Principles. In: Wild D, editor. The Immunoassay Handbook. London, Macmillan Press Ltd; 1994. p. 3-44.
26. Ray M, Muir TM, Murray GD, Kennedy R, Girdwood RW, Donaldson MD. Audit of screening programme for congenital hypothyroidism in Scotland 1979-93. Arch Dis Child. 1997; 76:411-5.
27. Yordam N, Calikoglu AS, Hatun S, Kandemir N, Oguz H, Tezic T, Ozalp I. Screening for congenital hypothyroidism in Turkey. Eur J Pediatr. 1995; 154:614-6.
28. Zhang YQ, Cao QX. Experience in neonatal screening for congenital hypothyroidism. Chin Med J. 1993; 106:216-9.
29. Vela M, Gamboa S, Loera-Luna A, Aguirre BE, Perez-Palacios G, Velazquez A. Neonatal screening for congenital hypothyroidism in Mexico: experience, obstacles, and strategies. J Med Screen. 1999; 6:77-9.
30. Delange F. Screening for congenital hypothyroidism used as an indicator of the degree of iodine deficiency and of its control. Thyroid. 1998; 8:1185-92.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-06-26]