

**IRON / TIBC
ЖЕЛЯЗО / ЖСК****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЖЕЛЯЗО, ЖСК В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Желязото в серума се отделя от Fe(III) – transferrin complex чрез добавяне на киселинен буфер, съдържащ хидроксиамин, който редуцира Fe (III) до Fe (II). Хромогенният агент Ferene, образува силно оцветен Fe (II) – complex, който се измерва фотометрично при 590 nm.

Ненаситеният ЖСК се определя чрез добавяне на Fe (II) желязо към серума, за да се свържат до формиране на ненаситени ЖСК. Разликата между количеството добавено Fe (II) и количеството измерено Fe (II) представлява ненаситеният ЖСК. Пълният ЖСК се определя чрез добавяне на стойността на желязото в серума към стойността на НЖСК.

РЕАГЕНТИ

1. Iron Buffer Reagent - Желязо буферен реагент:

Hydroxylamine hydrochloride 220 mM в acetate buffer, pH 4.5 с повърхностно активен агент

2. UIBC Buffer Reagent - НЖСК буферен реагент:

Tris Buffer 0.5 M, pH 8.0 с повърхностно активен агент; консервант – натриев азид

3. Желязо цветен реагент:

Ferrozine 16.6 mM в Hydroxylamine hydrochloride

4. Желязо стандарт (89.5 µmol/l)

500 µg Ferrous chloride Hydroxylamine hydrochloride

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реагентите са само за "ин витро" употреба. НЖСК съдържа натриев азид, който може да се свърже с оловото и медта в канализационната система и да се образуват силно експлозивни метални азиди. При изхвърляне отивайте с големи количества вода, за да не се получават натрупвания. Избягвайте поглъщане, тъй като токсичността не е установена. Третирайте всички проби като инфекциозни и спазвайте установените лабораторни правила за работа.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Реагентите са стабилни до изтичане на срока на годност, посочен на опаковката и се съхраняват при стайна температура. Не използвайте реагента, ако не отговаря на контролните стойности. Реагентът трябва да се изхвърли, ако има видими признаци на помътняване или образувани кристали, които не се разтварят веднага.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Препоръчително е да се използва пресен нехемолизиран серум. Отделете съсиреците възможно най-бързо. Хепаринизирана плазма може да се използва, но другите антикоагуланти не трябва да се използват, за да се избегне замърсяване с желязо. Според литературата желязото в серума е стабилно 4 дни при стайна температура (15-30°C) и седем дни при 2-8°C.

ИНТЕРФЕРИРАЩИ СУБСТАНЦИИ

В литературата има изчерпателен списък на медикаментите и веществата, които могат да повлияят на нивата на желязо. Желязото, съдържащо се в хемоглобина не реагира при този метод, следователно лека хемолиза няма да интерферира. Силна хемолиза обаче (розови или червени проби), ще доведе до измерена абсорбция при използваната дължина на вълната и трябва да се избягват. За да не съдържат кюветите, епруветките и т.н. желязо трябва да бъдат измити с горещ разтвор (1:3) на хидрохлорна или нитритна киселина и след това да се изплакнат няколко пъти с дейонизирана вода без желязо или дестилирана вода.

ПРОЦЕДУРА ЗА МАНОУАЛНА РАБОТАСерумно желязо

1. Означете епруветките/кюветите "Сляпа проба", "Стандарт", "Контроли", "Пациенти" и т.н.
2. Добавете 2.5 ml Iron Buffer Reagent във всички епруветки.
3. Добавете 0.5 ml (500µl) от пробата към съответните епруветки и разбъркайте. Забележка: Добавете 500 µl вода без желязо към сляпата проба.
4. Нулирайте спектрофотометъра при 560 nm със сляпа проба.
5. Отчетете и запишете абсорбцията на всички епруветки (A1).
6. Добавете 0.05 ml (50 µl) Iron Color Reagent към всички епруветки. Размесете.
7. Инкубирайте всички епруветки при 37°C в продължение на 10 минути.

8. Нулирайте спектрофотометъра при 560 nm със сляпа проба. (Дължина на вълната 520-560 nm).

9. Отчетете и запишете абсорбцията на всички епруветки (A2).

* ВМЕСТО СТАНДАРТА МОЖЕ ДА СЕ ИЗПОЛЗВА МНОГОЦЕЛЕВИ КАЛИБРАТОР НА ТЕКО ДАЙЪГНОСТИКС.

РЕЗУЛТАТИ

(A - абсорбция, STD - стандарт)

$A2_{\text{тест}} - A1_{\text{тест}} \times \text{Концентрация на STD} = \text{Пълно желязо (µmol/l)}$

A2 STD - A1 STD

Пример:

A1 тест = 0.08 A2 тест = 0.15

A1 STD = 0.000 A2 STD = 0.40

$0.15 - 0.08 \times 89.5 = 0.175 \times 89.5 = 15.7 \mu\text{mol/l}$

0.40 - 0.00

НЖСК

1. Означете епруветките/кюветите "Сляпа проба", "Стандарт", "Контроли", "Пациенти" и т.н.
2. Добавете 2.0 ml UIBC Buffer Reagent във всички епруветки.
3. Добавете 1.0 ml вода без желязо към епруветката "сляпа проба". Размесете.
4. Добавете 0.5 ml вода без желязо и 0.5 ml стандарт към епруветката "Стандарт". Размесете.
5. Добавете 0.5 ml (500µl) от съответните проби и 0.5 ml стандарт към епруветките "Пациенти".
6. Нулирайте спектрофотометъра при 560 nm със сляпа проба.
7. Отчетете и запишете абсорбцията на всички епруветки (A1).
8. Добавете 0.05 ml (50 µl) Iron Color Reagent към всички епруветки. Размесете.
9. Инкубирайте всички епруветки при 37°C в продължение на 10 минути.
10. Нулирайте спектрофотометъра при 560 nm със сляпа проба. (Дължина на вълната 520-560 nm).
11. Отчетете и запишете абсорбцията на всички епруветки (A2).

* ВМЕСТО СТАНДАРТА МОЖЕ ДА СЕ ИЗПОЛЗВА МНОГОЦЕЛЕВИ КАЛИБРАТОР НА ТЕКО ДАЙЪГНОСТИКС.

РЕЗУЛТАТИ за НЖСК

(A - абсорбция, STD - стандарт)

Конц. на STD - $A2_{\text{тест}} - A1_{\text{тест}} \times \text{Конц. на STD} = \text{НЖСК (µmol/l)}$

A2 STD - A1 STD

Пример:

A1 тест = 0.10 A2 тест = 0.20

A1 STD = 0.000 A2 STD = 0.40

$89.5 - 0.2 - 0.10 \times 89.5 = 89.5 - (0.25 \times 89.5) = 67.1 \mu\text{mol/l}$

0.4 - 0.00

Забележка: Разликата между A1 тест и A2 тест понякога е съвсем малка поради висока степен на ненасищане на трансферина с желязо. Пробата трябва да се разрежда 1:1 с вода без желязо и да се тества отново. Резултатът се умножава по две.

ПЖСК

Ниво на желязо + НЖСК = ПЖСК (µmol/l)

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Пълно желязо 10.7 – 26.9 µmol/l

ПЖСК 44.7 – 71.6 µmol/l

Насищане с желязо 20-55%

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой обхват от очаквани стойности.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Линейност: 89.5µmol/l. Проби със стойности над тази граница трябва да се разреждат 1:1 с нормален физиологичен разтвор, да се тестват отново и резултатът да се умножи по две.
2. Чувствителност: 0.36µmol/l при резолюция A = 0.001
3. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с друг подобен метод, даде коефициент на корелация 0.98 и уравнение на регресията $y = 1.0x - 4.86$ за серумно желязо и 0.97 и уравнение на регресията $y = 0.86x + 56$ за НЖСК

Re:10/01

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1