

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije gvožđa u serumu ili plazmi.

METODA

Spektrofotometrijski metod za određivanje gvožđa, bez deproteinizacije i upotrebe slepe probe uzorka.

KLINIČKI ZNAČAJ

Merenje koncentracije gvožđa koristi se u dijagnostici i lečenju bolesti kao što su sideropenijska anemija, hemohromatoza i kod hroničnih bubrežnih bolesti. Gvožđe se određuje i zbog dijagnoze i praćenja mikrocitne anemije (npr. zbog poremećaja metabolizma gvožđa i hemoglobinopatija), makrocitne anemije (npr. zbog nedostatka vitamina B12, folne kiseline i poremećaja metabolizma izazvanog lekovima) kao i normocitne anemije poput bubrežnih anemija (deficit eritropoetina), hemolitičke anemije, hemoglobinopatija, bolesti koštane srži i toksičnog oštećenja koštane srži.

PRINCIP ODREĐIVANJA

U literaturi je predloženo više kompleksirajućih reagenasa za spektrofotometrijsko određivanje gvožđa od kojih su najpoznatiji ferozin, feren i Nitro-PAPS.

U kiseloj sredini gvožđe(III) se oslobađa iz kompleksnog jedinjenja sa transferinom i istovremeno redukuje do gvožđa(II). Gvožđe(II) formira sa "Ferenom" obojeno kompleksno jedinjenje sa maksimumom apsorancije na 592 nm. Intenzitet boje nastalog kompleksa proporcionalan je koncentraciji gvožđa u serumu¹⁻³.

REAGENSI

Gvožđe feren, Ref: GFR-250 se sastoji od 2 reagensa i 1 standarda:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 50 mL
Standard Gvožđa	1 x 5 mL

Gvožđe feren, Ref: GFR-500 se sastoji od 2 reagensa i 1 standarda:

Reagens 1 (Rg.1)	4 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 100 mL
Standard Gvožđa	1 x 5 mL

SASTAV REAGENASA

Rg.1 Acetatni pufer pH 4.8	1 mol/L
Tiourea	100 mmol/L
Stabilizatori	
Rg.2 Askorbinska kiselina	> 160 mM
"Feren"	5 mmol/L
Standard gvožđa(II)	89 µmol/L

UPOZORENJE

- Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
- Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
- Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Reagens 1 i Reagens 2 su spremni za upotrebu.

Priprema radnog standarda : Radni standardni rastvor gvožđa priprema se razblaživanjem Standarda gvožđa(II) u odnosu 1:2 sa dejonizovanom vodom, pri čemu se dobija rastvor gvožđa(II) koncentracije 44,5 µmol/L.

STABILNOST REAGENSA

Originalno pakovan reagens stabilan je do isteka označenog roka na pakovanju, ako se čuva pod propisanim uslovima.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan serum ili plazmu; kao antikoagulans koristiti isključivo heparin.

Stabilnost : 7 dana na 20-25 °C
3 nedelje na 4-8 °C
> 12 meseci na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	582-607/700 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	30, 37° C
Odnos : uzorak / reagens	2 / 20 / 5
Reakcija :	End Point
Inicijalna A reagensa :	< 0.5 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz1	Ast1	Asp1
Uzorak	100 µL	-	-
Standard	-	100 µL	-
Destilovanu vodu	-	-	100µL
Reagens 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL

Pripremljene rastvore promešati i posle 5 minuta izmeriti apsorancije uzorka (Auz1) i standarda (Ast1), a zatim dodati:

	Auz2	Ast2	Asp2
Reagens 2	250 µL	250 µL	250 µL

Promešati i posle 5 minuta izmeriti apsorancije Auz2 i Ast2 prema slepoj probi Asp2.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti standard gvožđa ili multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$c = \frac{A_{uz2} - A_{uz1}}{A_{st2} - A_{st1}} \cdot c_{st} \text{ (}\mu\text{mol/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Odrasli	$\mu\text{mol/L}$
Muskarci	9,5–28,6
Žene	8,8 – 26,0
Deca	$\mu\text{mol/L}$
2 nedelje	11 - 36
6 meseci	5 - 24
12 meseci	6 - 28
2 – 12 godina	4 - 24

Na referentne vrednosti utiče (pored drugih faktora) starosna struktura i etnički sastav populacije. Zato se preporučuje da svaka laboratorija odredi sopstvene referentne vrednosti.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 1 do 256 $\mu\text{mol/L}$ gvožđa.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,3 $\mu\text{mol/L}$

LoQ = 1,0 $\mu\text{mol/L}$

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 6.03 \Delta\text{Abs}$ po mmol/L

Interferencije

Na određivanje gvožđa ne utiču sledeći parametri:

bilirubin	$c < 1000 \mu\text{mol/L}$ (58,5 mg/dL)
hemoglobin	$c < 1,0 \text{ g/L}$
trigliceridi	$c < 22,6 \text{ mmol/L}$ (2000 mg/dL)
bakar	$c < 1000 \mu\text{g/dL}$.

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 19,25	Sd = 0,69	KV = 3,60 %
Uzorak 2	Xsr = 34,50	Sd = 0,96	KV = 2,78 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 19,35	Sd = 0,85	KV = 4,40 %
Uzorak 2	Xsr = 34,32	Sd = 1,01	KV = 2,93 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza⁴ između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme (100 uzoraka). Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$y = 0,9999 x - 0,024$

$r = 0,9992$

LITERATURA

1. A.Joseph D, V. Serge, Z.Bennie. Spectrophotometric study of several sensitive reagents for serum iron. Clin Biochem 14(6), 311-15, 1981.
2. B. Štraus, Medicinska biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
4. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I.J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____