

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje slobodnog kapaciteta vezivanja gvožđa (UIBC).

METODA

Spektrofotometrijski metod sa ferenom.

KLINIČKI ZNAČAJ

Merenje slobodnog kapaciteta vezivanja gvožđa (UIBC) u kombinaciji sa serumskim gvožđem korisno je dijagnostičko sredstvo u određivanju različitih poremećaja gvožđa. Ukupni kapacitet vezivanja gvožđa (TIBC) predstavlja zbir UIBC-a i serumskog gvožđa. TIBC predstavlja maksimalnu koncentraciju gvožđa koju proteini seruma mogu vezati. Nivoi UIBC-a u serumu variraju kada su prisutni poremećaji metabolizma gvožđa, gde su kapaciteti gvožđa često povećani u nedostatku gvožđa, a smanjeni u hroničnim inflamatornim poremećajima ili malignim bolestima.

PRINCIP ODREĐIVANJA

U uzorak se dodaje poznata koncentracija jona gvožđa. Određena količina se specifično vezuje za transferin na slobodnim mestima vezivanja gvožđa. Koncentracija preostalih nevezanih jona gvožđa se meri reakcijom sa ferenom. Razlika između količine viška gvožđa i ukupne količine dodate u serum je ekvivalentna količini vezanoj za transferin. Ovo je UIBC (slobodni kapacitet vezivanja gvožđa).

REAGENSI

UIBC, Ref: UIB-050 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	1 x 40 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 10 mL

UIBC, Ref: UIB-250 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 50 mL

SASTAV REAGENASA

Rg.1	Pufer, pH 8,5	100 mmol/L
	Amonijum Fe(II) sulfat	15 µmol/L
	Tiourea	100 mmol/L
	Stabilizatori	
Rg.2	Askorbinska kiselina	200 mmol/L
	Feren	5 mmol/L
	Tiourea	100 mmol/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

Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Reagens je stabilan do isteka označenog roka na bočici, ako se čuva na propisanoj temperaturi, zaštićen od svetlosti i kontaminacije.

UZORCI

Kao uzorak koristiti serum ili plazmu sa heparinom.

Stabilnost :	5 dana na 20 °C
	1 mesec na 4-8 °C
	1 mesec na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori.

ANALITIČKA PROCEDURA

Analitički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	576 - 600/660 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	3 / 40 / 10
Reakcija :	End Point
Inicijalna A reagensa :	< 0.6 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz1	Ast1	Asp1
Uzorak	60 µL	-	-
Voda/kalibrator	-	60 µL	-
Reagens 1	800 µL	800 µL	800 µL

Pripremljene rastvore promešati i posle 4 minuta izmeriti apsorbancije uzorka (Auz1) i standarda (Ast1), a zatim dodati:

	Auz2	Ast2	Asp2
Reagens 2	200 µL	200 µL	200 µL

Promešati i posle 4 minuta izmeriti apsorbancije Auz2 i Ast2 prema slepoj probi Asp2.

KALIBRACIJA

Kalibraciju vršiti u dve tačke koristeći dej. vodu i kalibrator

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

Izračunavanje vršiti izračunavanjem sa kalibracione krive.

REFERENTNE VREDNOSTI

Serum/plazma¹ :

Muškarci :	20 - 62 µmol/L
Žene :	24 - 70 µmol/L

Svaka laboratorija bi trebalo da odredi sopstvene referentne vrednosti na osnovu karakteristika lokalne populacije.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Dirui CS-400 i Biotechnica BT-1500.

Opseg merenja

Od 2 do 125 $\mu\text{mol/L}$ UIBC-a.

Uzorke sa koncentracijama višim od 125 $\mu\text{mol/L}$ razblažiti 1+1 fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 2.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 1 $\mu\text{mol/L}$

LoQ = 2 $\mu\text{mol/L}$

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 1,44 \Delta\text{mAbs po } \mu\text{mol/L}$

Interferencije

Na određivanje UIBC-a ne utiču sledeće supstance:

bilirubin $c < 1000 \mu\text{M}$ (58 mg/dL)

hemoliza $c < 0,5 \text{ g/L}$

Jača hemoliza interferira jer se iz hemolizovanih eritrocita oslobađa gvožđe.

lipemija $c < 1000 \text{ mg/dL}$.

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1 $X_{sr} = 20,5$ $S_d = 0,38$ $KV = 1,87 \%$

Uzorak 2 $X_{sr} = 52,5$ $S_d = 0,86$ $KV = 1,63 \%$

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1 $X_{sr} = 25,1$ $S_d = 0,53$ $KV = 2,12 \%$

Uzorak 2 $X_{sr} = 48,0$ $S_d = 0,82$ $KV = 1,95 \%$

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{3,4} između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme (50 uzoraka).

Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

Linearna regresija
 $y = 1,007 x - 0,15$
 $r = 0,993$

Passing-Bablok
 $y = 1,011 x - 0,11$

LITERATURA

1. N.W. Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd edition Philadelphia, Pa:W.B. Saunders, 328-330, 1987.
2. 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.
3. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988.



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



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

