

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania żelaza w surowicy za pomocą analizatora Yumizen C560. **Rx Only.**

Historia metody

Żelazo występuje w surowicy w kompleksie z transferyną, białkiem transportowym. Większość wczesnych procedur oznaczania żelaza obejmowała dysocjację żelaza z kompleksu żelazo-białko, wytrącanie białek, a następnie pomiar zawartości żelaza w przesączu wolnym od białka.

Do oznaczania zastosowano wiele chromagenów, w tym tiocyjanian o-fenantroliny, batofenantroliny i TPTZ. W 1971 roku Persijn i wsp.¹ przedstawili metodę wykorzystującą ferrozynę chromagenową, opisaną przez Stookey.² Metoda ta nie wymagała wytrącania białek i była bardziej czuła niż poprzednie metody. Niniejsza procedura jest modyfikacją metody Persijna.

Zasada metody

Żelazo w surowicy: żelazo związane z transferyną jest uwalniane w kwaśnym pH i redukowane z jonów żelazowych do jonów żelazowych. Jony te reagują z ferrozyną, tworząc kompleks o barwie fioletowej, który mierzy się spektrofotometrycznie przy długości fali 560 nm. Absorbancja mierzona przy tej długości fali jest proporcjonalna do stężenia żelaza w surowicy.

Znaczenie kliniczne³

W większości przypadków do uzyskania największego znaczenia diagnostycznego niezbędne są zarówno wartości żelaza w surowicy, jak i TIBC. Niskie wartości żelaza w surowicy obserwuje się w przypadku przewlekłej utraty krwi, niedostatecznego spożycia lub wchłaniania żelaza oraz zwiększonego zapotrzebowania na zapasy organizmu (np. ciąża). Podwyższone wartości żelaza w surowicy są widoczne w zwiększonej destrukcji czerwonych krwinek, zmniejszonej syntezie czerwonych krwinek, zwiększonym spożyciu żelaza lub zwiększonym uwalnianiu zapasów żelaza. Zwiększenie TIBC może być spowodowane zwiększoną produkcją apotransferyny (np. przy przewlekłym niedoborze żelaza) lub zwiększonym uwalnianiem ferrytyny, jak w przypadku martwicy komórek wątrobowych. Zmniejszenie TIBC może wystąpić z marskością wątroby i hemochromatozą z powodu niedoboru ferrytyny lub nerczycą z powodu utraty apotransferyny.

Odczynniki

1. Odczynnik bufora żelaza (R1): chlorowodorek hydroksylaminy 220 mM w buforze octanowym, pH 4,5 ze środkiem powierzchniowo czynnym.
2. Barwnik żelaza (R2) Odczynnik: ferrozyna 3,6 mM w chlorowodoru hydroksyloaminy.

Środki ostrożności i zagrożenia

1. Wszystkie odczynniki są toksyczne. Nie pipetować ustami. Unikaj wszelkiego kontaktu.
2. Ten odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.

Zagrożenia:

Bufor: Klasyfikacja zagrożeń: działanie żrące/drażniące na skórę (kategoria 2), uszkodzenie/podrażnienie oczu (kategoria 2), działanie toksyczne na narządy docelowe, powtarzające się narażenie; Krew i ośrodkowy układ nerwowy (kategoria 1), substancja działająca uczulająco na skórę (kategoria 1), substancja rakotwórcza (kategoria 2)

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: H315: Działa drażniąco na skórę, H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry, H319: Działa drażniąco na oczy,

H351: Podejrzewa się, że powoduje raka, H372: Powoduje uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub powtarzane narażenie

Zwroty wskazujące środki ostrożności: **Zapobieganie:** P202: Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków ostrożności.

P260: Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P264: Dokładnie umyć skórę po użyciu. P270: Nie jeść, nie pić i nie palić podczas stosowania tego produktu. P272: Zanieczyszczonej odzieży roboczej nie należy wyrzucać poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. **Reagowanie:** P314: W przypadku złego samopoczucia zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed użyciem P302 + P352: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: umyć dużą ilością wody z mydłem. P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeśli są i można to łatwo zrobić. Kontynuuj płukanie. P308 + P313: W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P332 + P313: W PRZYPADKU podrażnienia SKÓRY: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P337 + P313: JEŚLI podrażnienie oczu utrzymuje się: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. **Przechowywanie:** P404: Przechowywać w zamkniętym pojemniku. **Usuwanie:** P501: Zawartość usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

Kolor: Klasyfikacja zagrożeń: Działanie uczulające na skórę (kategoria 1), Działanie toksyczne na narządy docelowe, Powtarzające się narażenie; Krew i ośrodkowy układ nerwowy (kategoria 1), czynnik rakotwórczy (kategoria 2)

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry, H351 Podejrzewa się, że powoduje raka, H372: Powoduje uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub powtarzające się narażenie.

Zwroty wskazujące środki ostrożności: **Zapobieganie:** P202: Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków ostrożności.

P260: Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P264: Dokładnie umyć skórę po użyciu. P270: Nie jeść, nie pić i nie palić podczas stosowania tego produktu. P272: Zanieczyszczonej odzieży roboczej nie należy wyrzucać poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. **Reagowanie:** P314: W przypadku złego samopoczucia zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P363: Wypierz zanieczyszczone ubranie przed ponownym użyciem. P302 + P352: W PRZYPADKU

KONTAKTU ZE SKÓRĄ: umyć dużą ilością wody z mydłem. P308 + P313: W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć

porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P333 + 313: W PRZYPADKU podrażnienia SKÓRY lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod

opiekę lekarza. **Przechowywanie:** P404: Przechowywać w zamkniętym pojemniku. **Usuwanie:** P501: Zawartość usuwać do

zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów. **Zapoznaj się z kartą charakterystyki tego produktu (SDS-HI904) dostępną pod numerem telefonu 1-734-487-8300**



Hasło ostrzegawcze: Niebezpieczeństwo



Hasło ostrzegawcze: Niebezpieczeństwo

Przechowywanie i stabilność odczynnika

Wszystkie odczynniki przechowywać w lodówce w temperaturze 2-8°C. Odczynniki zachowują stabilność do daty ważności podanej na etykiecie, o ile są przechowywane zgodnie z zaleceniami. Badania producenta wykazały, że odczynnik jest stabilny przez 30 dni po umieszczeniu w schłodzonej karuzeli z odczynnikiem (2-10°C), jednak stabilność odczynnika może się różnić w zależności od indywidualnych warunków laboratoryjnych.

Pogorszenie jakości odczynnika

Wszystkie odczynniki powinny być klarowne. Zmętnienie może wskazywać na zanieczyszczenie i odczynnika nie należy używać.

Pobieranie i przechowywanie próbek

1. Próbką z wyboru jest świeża, niezhemolizowana surowica.

Pointe Total Iron Reagent Set

2. Surowicę należy oddzielić, gdy tylko utworzy się skrzep.
3. Żelazo w surowicy jest stabilne przez cztery dni w temperaturze pokojowej (15-30°C) i siedem dni w temperaturze 2-8°C.⁴

Interferencje

1. Wiadomo, że niektóre leki i inne substancje wpływają na poziom krążącego żelaza. Patrz Young i in.⁵
2. Żelazo zawarte w hemoglobinie nie reaguje w tej metodzie, więc lekka hemoliza nie będzie przeszkadzać. Jednak duża hemoliza (próbki różowe lub czerwone) będzie miała wpływ na absorbancję mierzoną przy stosowanej długości fali i należy jej unikać.³
3. Aby rurki, pipety itp. były wolne od żelaza, należy je przemyć gorącym, rozcieńczonym (1:2) kwasem solnym lub azotowym, a następnie kilkakrotnie przepłukać wodą dejonizowaną lub destylowaną pozbawioną żelaza.

Materiały wymagane

1. Iron Buffer R1 Reagent
2. Iron Color R2 Reagent

Materiały wymagane, niedostarczane

1. Analizator Yumizen C560
2. Instrukcja obsługi do analizatora Yumizen C560
3. Chemistry Calibrator, numer katalogowy C7506-50
4. Chemistry control, numer katalogowy C7592-100

Kalibracja

Użyj kalibratora surowicy identyfikowalnego przez NIST. Procedurę należy skalibrować zgodnie z instrukcjami producenta przyrządu. Jeśli wyniki kontroli okażą się poza zakresem, test może wymagać ponownej kalibracji. W typowych warunkach pracy badania stabilności kalibracji producenta wykazały, że krzywa kalibracji będzie stabilna przez co najmniej 14 dni.

Kontrola jakości

Kontrole surowicy ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami powinny być rutynowo oznaczane w celu monitorowania ważności reakcji. Kontrolę jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

Wartości oczekiwane ⁶

Żelazo ogółem = 60 – 150 ug/dl

Zdecydowanie zaleca się, aby każde laboratorium określiło zakres normy dla swojej określonej populacji.

Charakterystyka

1. Zakres oznaczenia: 2 - 500 ug/dl. Próbkę o wartościach powyżej 500 ug/dl należy rozcieńczyć 1:1 roztworem soli fizjologicznej, ponownie oznaczyć i pomnożyć wynik przez dwa.
2. Porównanie: przeprowadzono badanie Yumizen C560 i podobnego analizatora przy użyciu tej metody, w wyniku czego uzyskano następujące wyniki:

Metoda	Żelazo
N	93
Średnie żelazo (ug/dL)	90.2
Zakres (ug/dL)	0-333
Odchylenie standardowe	71.0
Regresja	$y = 0.967x + 9.9$
Współczynnik korelacji	0.9885

3. Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono za pomocą analizatora Yumizen C560 po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.⁷

Próbka	W ciągu dnia			Całkowita		
	NISKA	SREDNIA	WYSOKA	NISKA	SREDNIA	WYSOKA
N	20	20	20	40	40	40
Średnia	80.4	222.2	492.1	75.4	211.4	482.0
Odchylenie standardowe	1.0	1.7	4.0	2.4	8.9	16.9
Współczynnik wariancji (%)	1.3%	0.8%	0.8%	3.2%	4.2%	3.5%

4. Czułość: 2 SD Granica wykrywalności (95% Con Int)2 µg/dL

Piśmiennictwo

1. Persijn, J.P., et al, Clin. Acta 35:91, (1971).
2. Stookey, L.L., Anal. Chem. 42:779, (1970).
3. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 923-929, (1976).
4. Weissman, N., Pileggi, V.J., in Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., R.J. Henry et al, editors, Hagerstown (MD), Harper & Row, pp. 692-693, (1974).
5. Young, D.S. et al, Clin. Chem. 21:1D, (1975).
6. Henry, J.B., Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 1434, (1984).
7. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

PARAMETRY CHEMICZNE

Chem:	FE	Nr.:	221	Typ próbki:	Surowica	
Nazwa chem:	Żelazo	Wydruk:	FE	Kierunek reakcji:	Rosnąca	
Rodzaj reakcji:	Punktu końcowego	II dł. fali:	660	Miejsca dziesiętne:	0.01	
I dł. fali:	546	Cykl pomiaru próbki:	80	82		
Jednostka:	µg/dl	Obj. próbki.	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika.	Rozcieńczalnik
Cykl pomiaru próby ślepej:	47 49	Podstawowa:	7.2 ul --- ul --- ul	R1:	120 ul --- ul	
		Zmniejszona:	--- ul --- ul --- ul	R2:	24 ul -- ul	
		Zwiększona:	--- ul --- ul --- ul	R3:	--- ul -- ul	
		<input type="checkbox"/> Próba ślepa	<input checked="" type="checkbox"/> Auto powt.	R4:	--- ul --- ul	

Regulacja przesunięcia/nachylenia

Nachylenie: 1	Przesunięcie: 0	Limit liniowości:	
Zakres liniowości (podstawowy)	2 500	Zużycie substratu:	
Zakres liniowości (Zwiększony)	_____	Mieszana	
Zakres liniowości (Zmniejszony)	_____	absorbancja próby ślepej:	
Abs R1/próba ślepa:	_____	Czas	
Pusta odpowiedź:	_____	odkorkowania:	
Chemia bliźniacza:		Limit alarmu	
<input type="checkbox"/> Efekt Prozone	<input type="radio"/> Ocena wskaźnika	odczynnika:	
		<input type="checkbox"/> Rozszerzalność liniowa dla enzymu	
		<input type="radio"/> Dodanie antygenu	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

