

**ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Ο σίδηρος στον ορό βρίσκεται, αφ' ενός μεν σαν ιόν, αφ' ετέρου δε, δεσμευμένος με την πρωτεΐνη τρανσφερίνη. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του σιδήρου είναι απαραίτητη η αποδέσμευση του από την τρανσφερίνη η οποία επιτυγχάνεται με την βοήθεια ενός παραγώγου της γουανιδίνης. Παρομοίως ασκορβικού οξέος τα ιόντα του Fe<sup>3+</sup> ανάγονται προς Fe<sup>2+</sup> τα οποία κατα την αντιδραση τους με μία χρωστική, το φερένιο, δίνουν κυανή χηλική ένωση. Η αύξηση της απορρόφησης στα 595 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του σιδήρου στο δείγμα.

Η απορρόφηση που οφείλεται σε θολερότητα του ορού ή σε χρωστικές, που απορροφούν στο ίδιο μήκος κύματος, αφαιρούνται με την χρήση τυφλού αποτελούμενου από όλα τα αντιδραστήρια εκτός του φερενίου.

**ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ**

Ανδρες : 59 - 158 µg/dl  
Γυναίκες : 37 - 145 µg/dl

**ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

R1. Διάλυμα Γουανιδίνης  
R2. Διάλυμα φερενίου  
R3. Φιαλίδια εργασίας (στερεό ασκορβικό οξύ)  
R4. Πρότυπο διάλυμα Σιδήρου 200 µg/dl (όπου απαιτείται)

**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ****Φωτόμετρα****Τυφλό:**

Σε ένα φιαλίδιο εργασίας (R<sup>3</sup>) που περιέχει το στερεό, μεταφέρετε 25 ml διαλύματος γουανιδίνης (R<sup>1</sup>). Αναδεύσετε μέχρι την πλήρη διάλυση του στερεού.

**Διάλυμα εργασίας :**

Σε ένα φιαλίδιο εργασίας (R<sup>3</sup>) που περιέχει το στερεό, μεταφέρετε 25 ml διαλύματος γουανιδίνης (R<sup>1</sup>) και 0,5 ml διαλύματος φερενίου (R<sup>2</sup>).

**Αναλυτές****Διάλυμα εργασίας :**

Σε ένα φιαλίδιο εργασίας (R<sup>3</sup>) που περιέχει το στερεό, μεταφέρετε 25 ml διαλύματος γουανιδίνης (R<sup>1</sup>). Αναδεύσετε μέχρι την πλήρη διάλυση του στερεού.

Το διάλυμα φερενίου R<sup>2</sup> χρησιμοποιείται ως έχει.

Στους αναλυτές **Kone** παρασκευάσετε μίγμα αποτελούμενο από 5 ml από το διάλυμα εργασίας και 0,1 ml φερενίου (R<sup>2</sup>). Μεταφέρετε το μίγμα στον επιθυμητό υποδοχέα του αναλυτή των 3, 15, ή 35 ml και στην αντίστοιχη θέση. Σε περίπτωση ιδιαίτερα θολών ορών δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται μίγμα αλλά μεθοδολογία 2 αντιδραστηρίων.

Στους αναλυτές **Lisa** το διάλυμα εργασίας χρησιμοποιείται ως **REAG.1**, το δε διάλυμα φερενίου (R<sup>2</sup>) ως **REAG.2**

Στους αναλυτές **Flexor** ως τυφλό (blank) και ως διάλυμα εργασίας, χρησιμοποιούνται τα διαλύματα που περιγράφονται για τα φωτόμετρα

**ΑΡΧΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ**

R1. Διάλυμα Γουανιδίνης PH 5, Γουανιδίνη > 4.5 M, συντηρητικά.  
R2. Διάλυμα φερενίου 44 mM.

**ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ**

Αναγράφεται στο set, σε θερμοκρασία 2-10°C.

Το διάλυμα εργασίας είναι σταθερό για 45 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C. Το μίγμα εργασίας στους αναλυτές KONE είναι σταθερό για 7 ημέρες στους 2-10°C.

**ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ**

Ορός, μη αιμολυμένος.  
Σταθερότητα σιδήρου στο δείγμα 7 ημέρες σε θερμοκρασία 15-30°C.

**ΜΕΘΟΔΟΣ** (όλοι οι όγκοι δηλώνουν ml)

Μήκος κύματος : 595 nm (570-610 nm)  
Θερμοκρασία : Περιβάλλοντος  
Κυψελίδα : 1 cm  
Σταθερότητα χρώματος : 1 ώρα

	ΤΓ	ΤΕ	S	ΤΟ	Ο
Δ. Τυφλού	1	-	-	1	-
Δ. Εργασίας	-	1	1	-	1
Δις απεστ. H <sub>2</sub> O	0,2	0,2	-	-	-
Σίδηρος 200 µg/dl	-	-	0,2	-	-
Ορός	-	-	-	0,2	0,2

Τ Γ : Τυφλό Γουανιδίνης      S : πρότυπο      Ο : Ορός  
Τ Ε : Τυφλό Εργασίας      ΤΟ : Τυφλό Ορού

Έντονη ανάδευση σε vortex,  
Επώαση 5-10 min σε θερμοκρασία δωματίου  
Εκτέλεση της μέτρησης.

Όλα τα τυφλά ορού (ΤΟ) μετρώνται έναντι του τυφλού Γουανιδίνης (ΤΓ), το πρότυπο (S) και τα δείγματα (Ο) έναντι τυφλού εργασίας (ΤΕ).

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ**

$$\text{Fe}(\mu\text{g/dl}) = [(A_o - A_{TO}) / A_s] \times 200$$

**ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ**

Μέχρι 1000 µg/dl ανάλογα με τον τύπο του αναλυτή

## **CALIBRATOR/ ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ** (Δεν παρέχονται με το kit)

**Biomultical, Bionorm, Biopath**

### **ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ**

1.Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην αποφυγή μόλυνσης των αντιδραστηρίων από ιόντα σιδήρου. Όλα τα σκεύη πρέπει να είναι μιας χρήσης. Σε περίπτωση που αυτό δεν είναι δυνατό πρέπει να πλένονται με HCl 6N και οι κυψελίδες με klintek.

2.Ορισμένοι οροί παρέχουν μηδενικό αποτέλεσμα. Αυτό οφείλεται στο ότι ορισμένα φάρμακα, όπως το Deteroxamine, δεσμεύουν ισχυρότατα τον σίδηρο με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η αντίδραση του με την χρωστική.

### **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Stookey L.L. Anal.Chem. 42 779 (1970)
- Williams H.L. et al Clin.Chem. 23 237 (1977)

### **ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ**

8 x 25 ml

## **ΤΕΧΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ**

**Γραμμικότητα (Linearity):** Η Αντίδραση είναι γραμμική στην περιοχή συγκεντρώσεων από 6-1000 µg/dl

### **Αναλυτική ευαισθησία - όριο ανίχνευσης (Sensitivity):**

Το όριο ευαισθησίας του προσδιορισμού υπολογίστηκε ότι αντιστοιχεί με 6 µg/dl

### **Πιστότητα (Precision):**

#### **Επαναληψιμότητα (Repeatability):**

A. Δεδομένα εντός του αυτού κύκλου ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD mg/dl	CV %
10	95,9	1,85	1,92
11	175	3,98	2,27
10	200,4	2,67	1,30

#### **Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility):**

B. Δεδομένα διαφόρων κύκλων και ημερών ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD mg/dl	CV %
15	96,2	3,27	3,39
16	115	1,62	1,40
27	195	4,13	2,06

### **Παρεμποδισεις - αλληλεπιδράσεις (Interference):**

Δεν παρουσιάζουν σημαντική αναστολή μέχρι τα αναφερόμενα όρια

Παρεμποδιστής	Έκφραση σε	Όρια mg/dl
Αιμόλυση	Αιμοσφαιρίνη	~80
Θολερότητα	Τριγλυκερίδια	~2000
Ίκτερος	Χολερυθρίνη	~20

Και η ελάχιστη ορατή αιμόλυση προκαλεί λανθασμένο θετικό αποτέλεσμα.

### **Ανάλυση παλινδρόμησης ( Regression Analysis):**

Μέθοδος: Γραμμική παλινδρόμηση (Linear Regression)

Αριθμός Δειγμάτων : 39

Όρια συγκέντρωσης : 19-209 µg/dl

Σχέση :  $y = -0,16 + 0,98x$

Όπου y η παρούσα μέθοδος και x παρεμφερής μέθοδος προσδιορισμού.

Συντελεστής συσχέτισης  $r=0,992$