

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. Παρουσία ασκορβικού οξέος τα ιόντα του Fe³⁺ ανάγονται προς Fe²⁺ τα οποία κατά την αντίδραση τους με μία χρωστική, την φερροζίνη, σχηματίζουν ερυθρά χηλική ένωση. Η αύξηση της απορρόφησης στα 565 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 αποτελούμενο από όλα τα αντιδραστήρια εκτός της φερροζίνης.



ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

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

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

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

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Συσκευασία 8 x 25 ml

Φωτόμετρα

Τυφλό

Σε ένα φιαλίδιο εργασίας (R1^a) που περιέχει το στερεό, μεταφέρετε 25 ml διαλύματος γουανιδίνης (R1). Αναδεύσετε μέχρι την πλήρη διάλυση του στερεού.

Διάλυμα εργασίας

Σε ένα φιαλίδιο εργασίας (R1^a) που περιέχει το στερεό, μεταφέρετε 25 ml διαλύματος γουανιδίνης (R1) και 1,5 ml διαλύματος φερροζίνης (R2). Αναδεύσετε μέχρι την πλήρη διάλυση του στερεού.

Αναλυτές

Διάλυμα εργασίας

Σε ένα φιαλίδιο εργασίας (R1^a) που περιέχει το στερεό, μεταφέρετε 25 ml διαλύματος γουανιδίνης (R1). Αναδεύσετε μέχρι την πλήρη διάλυση του στερεού.

Το διάλυμα φερροζίνης R² χρησιμοποιείται ως έχει.

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

Στους αναλυτές **Cobas Mira** χρησιμοποιούνται τα 5s racks και κατά προτίμηση οι υποδοχές B ή C. Το διάλυμα φερροζίνης (R²) χρησιμοποιείται αυτούσιο σαν Start reagent 1, ενώ στην κεντρική υποδοχή χρησιμοποιείται το διάλυμα εργασίας.

Συσκευασίες (8x50 + 4x20) ml & (4x50 + 1x40) ml

Σε ένα φιαλίδιο εργασίας (R1^a) που περιέχει το στερεό, μεταφέρετε ποσότητα διαλύματος γουανιδίνης (R1). Αναδεύσετε μέχρι την πλήρη διάλυση του στερεού. Μετά την διάλυση, το περιεχόμενο επαναφέρεται στο φιαλίδιο του διαλύματος γουανιδίνης (R1).

Το διάλυμα φερροζίνης R² χρησιμοποιείται ως έχει.

ΑΡΧΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ

R1. Ρυθμιστικό διάλυμα Γουανιδίνης PH 5, Γουανιδίνη > 4.5 M, συντηρητικά.
R2. Διάλυμα φερροζίνης >40 mM.

ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Αναγράφεται στο set, σε θερμοκρασία 2-10°C.
Το διάλυμα εργασίας είναι σταθερό για 30 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ

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

ΜΕΘΟΔΟΣ (όλοι οι όγκοι δηλώνουν ml)

Μήκος κύματος : 565 nm (550-580 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 ₂ O	0,2	0,2	-	-	-
Σίδηρος 200 μg/dl	-	-	0,2	-	-
Ορός	-	-	-	0,2	0,2

T Γ : Τυφλό Γουανιδίνης **S** : πρότυπο **O** : Ορός
T Ε : Τυφλό Εργασίας **ΤΟ** : Τυφλό Ορού

Εντονη ανάδευση σε vortex,
Επίωση 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 (O) έναντι τυφλού εργασίας(ΤΕ).

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

$$Fe(\mu\text{g/dl}) = [(A_0 - A_{\text{TO}}) / A_S] \times 200$$

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Μέχρι 1000 $\mu\text{g/dl}$ 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

R1 : 8 x 50 ml R2 : 4 x 20 ml

R1 : 4 x 50 ml R2 : 1 x 40 ml