



ПРИНЦИП МЕТОДА

Трансферрин-связанные ионы железа в образце освобождаются гуанидином и восстанавливаются с гидроксиламином. Ионы железа вступают в реакцию с феррозином, образуя окрашенный комплекс, который можно измерить спектрофотометрически^{1, 2, 3}.

СОСТАВ

A Реагент. 4 x 40 мл. Хлорид гуанидина 1.0 моль/л, гидроксиламин 0.3 моль/л, ацетатный буфер 0.4 моль/л, pH 4.0.

B. Реагент. 4 x 10 мл. Феррозин 8 ммоль/л.

S. Стандарт Железа. 1 x 5 мл. Железо 200 мкг/мл (35.8 μмоль/л). Водный первичный стандарт.

ХРАНЕНИЕ

Реагенты: Хранить при 2-8°C.

Стандарт (S): Хранить при 2-30°C.

Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

Признаки загрязнения:

– Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция бланка выше 0.050 при 560 нм.

– Стандарт: присутствие взвешенных частиц, мутность.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Стандарт (S) поставляется готовым к использованию.

Рабочий реактив: Перенести содержимое одного пузырька Реагента B в пузырек Реагента A. Тщательно перемешать. Другой объем Рабочего реагента может быть приготовлен следующим образом: 1 мл Реагента B + 4 мл Реагента A.

Стабильность в течение 6 месяцев при 2-8°C.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с фильтром 560 ± 20 нм.

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка или гепаринизированная плазма, полученная с помощью стандартных процедур. Стабильность 7 дней при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА

1. Довести реагент до комнатной температуры.
2. Внести реактивы в подписанные пробирки (прим. 1, 2)

	Реагент Бланк	Образец Бланк	Образец	Стандарт
Дистиллированная вода	200 мкл			
Образец		200 мкл	200 мкл	
Стандарт железа (S)				200 мкл
Реагент A		1.0 мл		
Рабочий Реагент	1.0 мл		1.0 мл	1.0 мл

3. Тщательно перемешать, оставить стоять в течение 5 минут при комнатной температуре
4. Измерить абсорбцию (A) Образца Бланка при 560 нм против дистиллированной воды.
5. Измерить абсорбцию (A) Образца и Стандарта при 560 нм против Бланка Реагента.

РАСЧЕТ

Концентрация железа в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\frac{A_{\text{обр}} - A_{\text{бланк образца}}}{A_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} = C_{\text{образца}}$$

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Сыворотка и плазма⁴

Мужчины: 65 - 175 мкг/дл = 11.6 - 31.3 мкмоль/л

Женщины: 50 - 170 мкг/дл = 9.0 - 30.4 мкмоль/л

Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения контроля качества теста и процедуры исследования рекомендуется использовать Контрольную сыворотку Уровень I (код 18005, 18009) и Уровень II (код 18007, 18010). Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля

качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

– Предел обнаружения: 4 мкг/дл = 0.71 мкмоль/л железа.

– Предел линейности: 1000 мкг/дл = 179 мкмоль/л железа. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 2 раза и повторить измерение.

– Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация	CV	N
103 мкг/дл = 18.4 мкмоль/л	2.2 %	20
305 мкг/дл = 54.6 мкмоль/л	0.7 %	20

– Воспроизводимость (от серии к серии):

Средняя концентрация	CV	n
103 мкг/дл = 18.4 мкмоль/л	2.9 %	25
305 мкг/дл = 54.6 мкмоль/л	2.2 %	25

– Чувствительность: 88 мА·дл/мкг = 4.86 мА·л/мкмоль

– Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами³. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.

– Интерференция: Билирубин не влияет на результаты. Не используйте гемолизированные и липемические сыворотки (триглицериды >15 г/л). Некоторые вещества и лекарства могут влиять на результат⁴.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Железо распределено между рядом различных органов и тканей тела: гемоглобином, миоглобином, тканями (главным образом, печенью, селезенкой и костным мозгом). Только 0.1% общего количества железа присутствует в плазме.

На концентрацию сывороточного железа влияет множество физиологических и патологических состояний. Изменение концентрации изо дня в день у здоровых людей может быть значительным.

Дефицит железа или его избыток являются главными нарушениями метаболизма железа. Однако, измененный метаболизм железа также связан с рядом других заболеваний.

Концентрации железа в сыворотке увеличены при гемохроматозе, острым отравлении железом, активном циррозе или острым гепатите и как следствие увеличения уровней трансферрина^{4, 6}.

Концентрации железа в сыворотке уменьшены у многих, но не у всех пациентов с железodefицитной анемией и хроническими воспалительными заболеваниями. Измерение железа в сыворотке не следует использовать как тест для идентификации дефицита железа^{4, 6}.

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Данные реагенты могут быть использованы в различных автоматических анализаторах.
2. Взаимодействие стекла с железом может влиять на реакцию. Использовать подкисленную воду для мытья стеклянной посуды или пластиковые пробирки.
3. Использование водного стандарта, особенно в некоторых анализаторах, может вызывать отклонения калибровочного графика, в этом случае рекомендуется использовать для калибровки стандарт на основе сыворотки (Сыворотка-Калибратор код 18011)

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Stookey LL. Ferrozine-A new spectrophotometric reagent for iron. *Anal Chem* 1970; 42: 779-81.
2. Itano M. Serum Iron Survey. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 516-522.
3. Artiss JD, Vinogradov S, Zak B. Spectrophotometric study of several sensitive reagents for serum iron. *Clin Biochem* 1981; 14: 311-315.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.