



NÁVOD K POUŽITÍ

ŽELEZO 250 A

KATALOGOVÉ ČÍSLO 105





SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
tel.: +420 461 531 163, +420 777 176 107, +420 777 324 399
fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

POUŽITÍ

Souprava Železo 250 A se používá ke kvantitativnímu stanovení koncentrace železa v krevním séru na automatických analyzátoch.

SOUHRN

Železo je biogenní prvek, obsažený v lidském těle v množství okolo 4 g, z toho asi 3 g železa jsou obsaženy v hemoglobinu erytrocytů. Další část železa je uložena v játrech, slezině nebo kostní dřeni, kde je skladováno ve formě ferritinu, z něhož se dá snadno mobilizovat. Pouze nepatrná část trojmocného železa (Fe^{3+}), je v plazmě vázána na transportní bílkovinu – transferin. Při stanovení železa v séru určíme koncentraci právě této formy železa. Železo se vstřebává v horní části tenkého střeva ve formě železnatých iontů. K dobrému vstřebávání železa je zapotřebí kyselá žaludeční šťáva. Následkem hypochlorhydrie může dojít ke snížení absorpce železa, což má za následek snížení koncentrace železa v plasmě. Nedostatek železa označovaný jako hyposiderémie se vyskytuje při nedostatku železa v potravě, nebo jako následek poruchy absorpce železa v tenkém střevě. Pokles plasmatického železa bývá u remise perniciózní anémie, nebo při poklesu vazebné bílkoviny železa – transferinu, což může nastat při nefrotické syndromu. Zvýšenou koncentraci železa v plasmě označujeme jako hypersiderémii. Takový stav nastává na příklad při dědičném onemocnění – hemochromatóze – při kterém chybí regulace absorpce železa v tenkém střevě a následkem je nadměrné ukládání železa v játrech, myokardu a ve slinivce. Podobné příznaky mohou vznikat při nadměrném příjmu železa, takový stav nazýváme hemosiderózou.¹

PRINCIP METODY

V prostředí činidla č.1a je železo disociováno z komplexu s transferinem. Po redukci hydroxylaminhydrochloridem reagují železnaté ionty s chromogenem FERENE S za vzniku barevného komplexu. Rozdíl v intenzitě zbarvení měřený při 600 nm před a po přidání chromogenu je úměrný koncentraci železa ve vzorku. Interferenci mědi je zabráněno přidáním thiomocoviny.



SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
tel.: +420 461 531 163, +420 777 176 107, +420 777 324 399
fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

SLOŽENÍ SOUPRAVY

1 ČINIDLO 2x100 ml:	Kyselina chlorovodíková	34,9 mmol/l
	Thiomočovina	65 mmol/l
	Detergenty, stabilizátory	
1a ČINIDLO 2 lahvičky	Hydroxylamin hydrochlorid	
2 CHROMOGEN 1 x 50 ml:	Acetátový pufr	1,40 mol/l
	Hydroxylamin hydrochlorid	129 mmol/l
	FERENE S	2,02 mmol/l

PŘÍPRAVA ČINIDEL

Obsah lahvičky s 1 ČINIDLEM převedeme do lahvičky s 1a ČINIDLEM, která obsahuje hydroxylamin hydrochlorid. Po rozpuštění je 1a ČINIDLO připraveno k použití a je při teplotě 2 - 25 °C stabilní 2 měsíce. 2 CHROMOGEN je připraven k přímému použití.

STABILITA SOUPRAVY

1 ČINIDLO, 1a ČINIDLO a 2 CHROMOGEN jsou při teplotě 2 – 25 °C stabilní až do doby expirace.

POUŽITÝ MATERIÁL

Ke stanovení se používá krevní sérum. Sérum lze skladovat při teplotě 2 – 8 °C 7 dní a při teplotě –20 °C 6 měsíců.

POSTUP ANALÝZY

	VZOREK [μl]	STANDARD [μl]	KONTR. VZOREK [μl]
SÉRUM	20	–	–
STANDARD	–	20	–
1a ČINIDLO	250	250	250

Návod k použití

ŽELEZO 250 A
kód 105



Strana 3/9



SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
tel.: +420 461 531 163, +420 777 176 107, +420 777 324 399
fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

Vše se promíchá a za 5 min. se změří absorbance blanku standardu A_{BIS} a vzorku A_{BIVz} proti kontrolnímu vzorku při 600 nm (eventuálně 580 – 620 nm)

	VZOREK [μ l]	STANDARD [μ l]	KONTR. VZOREK [μ l]
CHROMOGEN	50	50	50

Promíchá se a za dalších 5 minut se změří absorbance standardu A_{St} a vzorku A_{Vz} . Měření se provádí při 600 nm (eventuálně 580 – 620 nm) v 10 mm skleněných kyvetách. V případě bichromatického měření se vedlejší vlnová délka nastaví na hodnotu 700 nm.

VÝPOČET

$$fS_{Fe} [\mu\text{mol/l}] = c_{St} \cdot \frac{A_{Vz} - A_{BIVz}}{A_{St} - A_{BIS}}$$

c_{St} – koncentrace železa ve standardu ($\mu\text{mol/l}$)

KALIBRACE A KONTROLA

Ke kalibraci se používají komerčně dodávané kalibrátory například LYONORM kalibrátor firmy ERBA-LACHEMA. Ke kontrole lze použít kontrolní séra dodávaná řadou firem, například LYONORM HUM N a HUM P firmy ERBA-LACHEMA.

REFERENČNÍ INTERVAL²

Novorozenci	19,9 – 44,8 $\mu\text{mol/l}$
Kojenci	7,2 – 17,9 $\mu\text{mol/l}$
Děti	9,0 – 21,5 $\mu\text{mol/l}$
Muži	11,6 – 31,3 $\mu\text{mol/l}$
Ženy	9,0 – 30,4 $\mu\text{mol/l}$

Návod k použití

ŽELEZO 250 A
kód 105



Strana 4/9



ZNAKY ANALYTICKÉ METODY

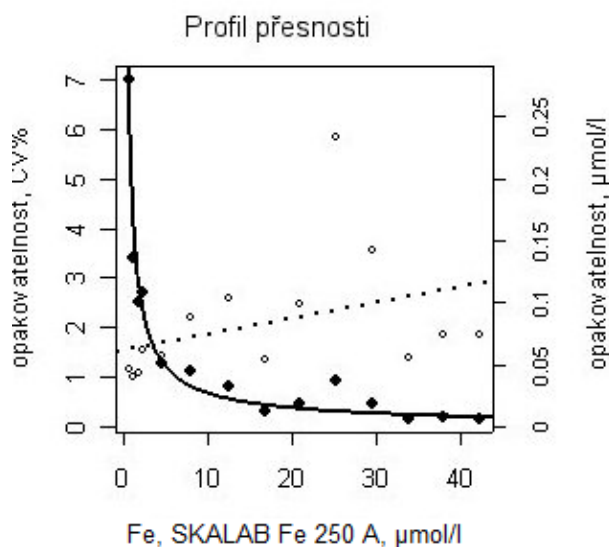
NEPŘESNOST

Odhady nepřesnosti v sérii a celkové nepřesnosti byly získány měřením na základě protokolu EP5-A NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)³. Celkový počet pozorování byl N=80 u každého séra. Výsledky v tabulce jsou platné pro měření na analyzátoru ADVIA 1650, Bayer.

Vzorek	Průměr μmol/l	Směrodatná odchylka μmol/l				Celková CV%	N
		uvnitř série	mezi sériemi	mezi dny	celková		
Nízký sérový pool	8,536	0,1112	0,0000	0,0919	0,1443	1,69	80
Vysoký sérový pool	37,26	0,1167	0,0942	0,3712	0,4004	1,07	80

PROFIL PŘESNOSTI

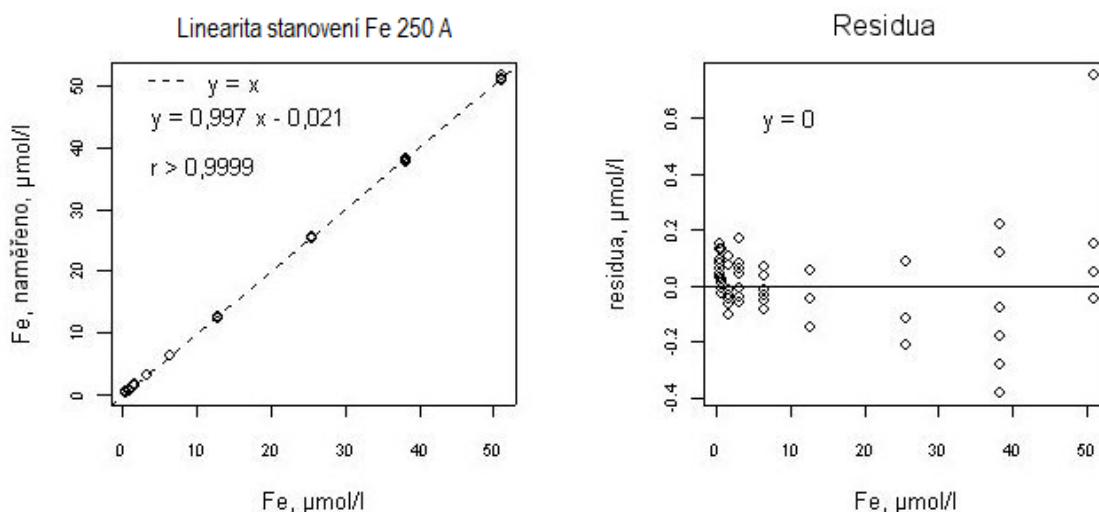
Profil přesnosti byl sestaven na základě opakovaného měření vzorků sér patnácti pacientů s koncentrací železa v rozmezí 0,6 – 42 μmol/l. Zatímco směrodatná odchylka opakovaných stanovení se zvyšuje s rostoucí koncentrací jen velmi mírně (tečkovaná čára), opakovatelnost vyjádřená jako variační koeficient (plná čára) prudce narůstá v oblasti koncentrací menších než 4 μmol/l. Výsledky dobře korespondují s odhadnutou mezí stanovitelnosti (1,5 μmol/l) vypočtené z kalibrační křivky a přesností zjištěnou v experimentu EP5-A.





LINEARITA

Linearita stanovení železa dosahuje hodnot 160 $\mu\text{mol/l}$, testována byla však byla ve fyziologicky důležité rozpětí koncentrací 0,4 – 50 $\mu\text{mol/l}$. V tomto intervalu korelační koeficient přesahuje hodnotu 0,9999, přímka prochází počátkem. To svědčí o uspokojivém proložení přímky měřenými body⁴. Rovněž přímka proložená residui má oba koeficienty statisticky nevýznamné od nuly na hladině významnosti 0,001.



Test linearity stanovení železa

Přímka $y = 0,997 x - 0,021$, $r > 0,9999$, $s_{y/x} = 0,151$

Přímka residuí $y = 0$

Intercept i směrnice statisticky nevýznamné od nuly na hladině významnosti 0,001.

MEZ DETEKCE A MEZ STANOVITELNOSTI

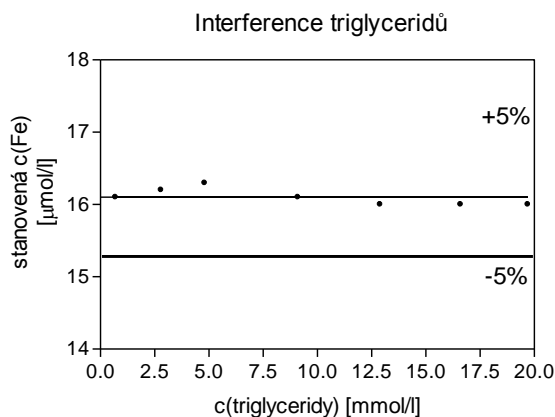
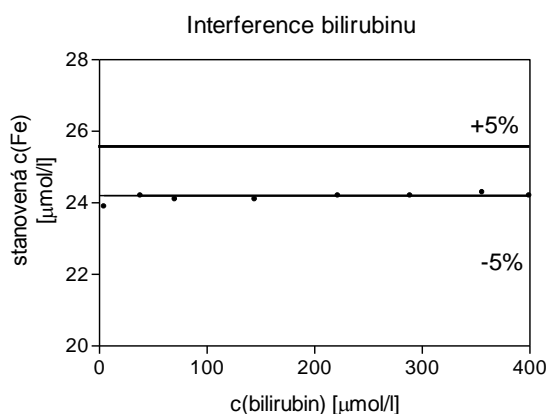
Výpočtem z kalibrační křivky ($n = 9$, interval 0,4 – 51 $\mu\text{mol/l}$) byla mez detekce stanovena na 0,1 $\mu\text{mol/l}$ a mez stanovitelnosti⁵ na 1,53 $\mu\text{mol/l}$.

INTERFERENCE

- Bilirubin neinterferuje až do koncentrace 400 $\mu\text{mol/l}$.
- Triglyceridy neinterferují až do koncentrace 20 mmol/l.
- Již nepatrná hemolýza má za následek falešně zvýšené hodnoty sérového železa, neboť železo je součástí hemoglobinu. Hemolytická séra neanalyzujeme.
- Pozitivní interferenci způsobují léky obsahující železo a to ještě po dvou týdnech po aplikaci.



- Seznam látek, které mohou interferovat, s tímto stanovením publikoval Young et al⁷ a Constantino⁶.



SROVNÁNÍ S COBAS INTEGRU 400 PLUS

Bylo analyzováno 50 vybraných vzorků pacientů na analyzátoru firmy *ROCHE Cobas Integra 400 Plus* s použitím diagnostické soupravy *Iron* od stejné firmy. Shodné vzorky byly analyzovány soupravou *SKALAB Fe 250 A* na analyzátoru *ADVIA 1650*. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny neparametrickou metodou podle Passinga a Babloka^{4,8} a diferenčním grafem s využitím programu⁹.

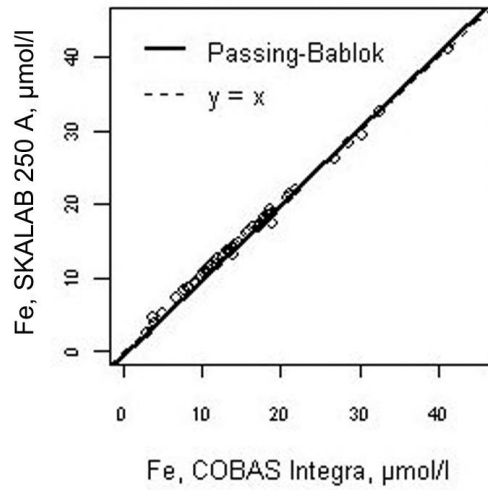
Srovnání metody Fe 250 A s metodou stanovení železa na INTEGRA 400

Passingova-Bablokova regrese	n	Směrnice (95% CI)	Intercept (95% CI)	r *
	50	1,025 (1,009 až 1,043)	-0,043 (-0,66 až -0,22)	0,995

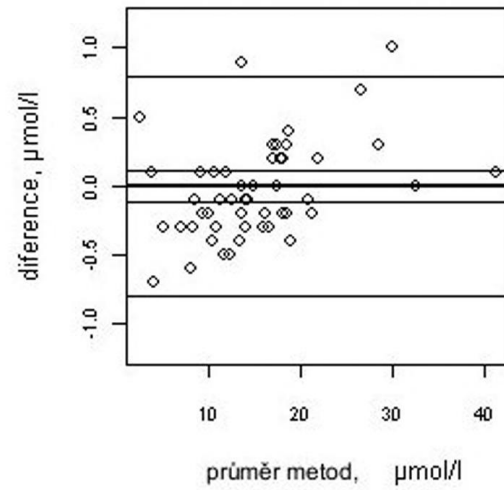
* pořadový korelační koeficient



Srovnání s metodou Roche COBAS Integra 400



Diferenční graf





SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
tel.: +420 461 531 163, +420 777 176 107, +420 777 324 399
fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

LITERATURA

1. Racek J. et al.: *Klinická biochemie*, Galen, Praha, 1999, 97-101.
2. Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed. Saunders, Philadelphia, 1999, ISBN 0-7216-5610-2, p. 1821.
3. National Comitée for Clinical Chemistry Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Device; Aprovede Guidline. NCCLS document EP5-A, 1997.
4. Passing H., Bablok W. A New Biometrical Procedures for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. *J.Clin.Chem.Clin.Biochem.* 1983;21:709-720.
5. Meloun M., Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat*. Edice Plus. Praha 1994, str. 505-6.
6. Constantino NV, Kabat HF „Drug Modification of Laboratory Values“ *American Journal of Pharm*,1973, 30.
7. Young DS,et al „Effect of Drug on Clinical Chemistry Laboratory Tests“ *Clinical Chemistry*, Pestaner L.C. and Gibberman V. 1975,21-32 1D.
8. Green, J.M.: *A Practical Guide to Analytical Metod Validation*. *Analytical Chemistry* 1996, (68), 305A-309A.
9. Linnet K. *A Program for Statistical Analysis in Clinical Biochemistry*. Version 4.2.0. *Metod Validation – The comparison of Methods Experiment*.

Datum poslední revize: 14. 4. 2015

Výrobce:



SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
Tel.: +420 461 531 163
Mobil: +420 777 176 107, +420 777 324 399
Fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

