



Método colorimétrico directo para la determinación de la capacidad latente de fijación de hierro (UIBC) en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

El hierro se transporta desde un órgano hacia otro formando un complejo con una proteína denominada transferrina. Dado que normalmente sólo un tercio de los sitios de unión están ocupados, la transferrina posee una considerable capacidad de unión al hierro. Esta se conoce como capacidad latente de fijación de hierro (UIBC).

La suma de hierro sérico y UIBC representa la capacidad total de fijación de hierro (TIBC).

Si bien las mediciones de hierro sérico son importantes desde el punto de vista clínico, cuando se combinan con valores de UIBC/TIBC permiten obtener un diagnóstico más completo de enfermedades como anemia y afecciones hepáticas.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Una cantidad conocida de iones de hierro se adiciona a la muestra a pH alcalino para saturar la transferrina y el exceso no unido se mide colorimétricamente. UIBC es igual a la diferencia entre la concentración de hierro adicionado y el exceso no unido. TIBC se puede calcular como la suma de hierro sérico y la capacidad latente de fijación de hierro (UIBC).

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: buffer Tris 500 mM, pH 8,7 contenido 50 ug/dl de hierro (II), tiourea 80 mM.

B. Reactive B: solución de ferrozina 5 mM.

S. Standard: solución de iones hierro (II) equivalente a 500 ug/dl.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Agua desionizada.

- Fer-color AA o Fer-color AA líquida, para el cálculo de TIBC.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. El **Standard** es utilizado en algunas adaptaciones a analizadores automáticos.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Evitar la ingestión y el contacto con los ojos.

El Reactivo A contiene tiourea; estudios experimentales realizados con esta droga en animales han evidenciado un posible efecto carcinogénico.

Todo el material a utilizar debe estar libre de hierro por lo que debe sumergirse al menos 6 horas en solución de HCl 10% y luego enjuagar con abundante cantidad de agua libre de hierro. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables a 2-10°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Variaciones en las lecturas de Blancos de Reactivos y/o Standard indican contaminaciones ocasionales (agua, material de vidrio, etc.).

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado

a) Recolección: el paciente debe estar en ayunas y las extracciones deben practicarse siempre a la misma hora (preferentemente de mañana) ya que las fluctuaciones fisiológicas son significativas durante el día.

b) Aditivos: en caso de utilizar plasma como muestra debe usarse heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observa interferencia por bilirrubina conjugada hasta 20 mg/dl, bilirrubina no conjugada hasta 35 mg/dl y heparina hasta 50 UI/ml. Se recomienda el uso de muestras libres de hemólisis. Los triglicéridos no interfieren hasta 1200 mg/dl en la técnica automática y 300 mg/dl en la técnica manual.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras pueden conservarse una semana en refrigerador (2-10°C). En caso de no procesarse en el momento, congelar para su conservación.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o analizador automático.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas.
- Baño a 37°C.
- Agua libre de hierro.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 560 nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 6 minutos
- Volumen de muestra: 100 ul
- Volumen total de reacción: 1,3 ml

PROCEDIMIENTO

En dos tubos o cubetas espectrofotométricas marcados B (Blanco) y D (Desconocido) colocar:

	B	D
Agua bidestilada	100 ul	-
Muestra	-	100 ul
Reactivos A	1 ml	1 ml
Reactivos B	200 ul	200 ul

Mezclar, incubar 3 minutos a 37°C. Leer la absorbancia de B (BA) y de D (BD) en espectrofotómetro a 560 nm llevando a cero el aparato con agua. Luego agregar:

Mezclar inmediatamente, incubar 3 minutos a 37°C. Volver a leer cada uno en las condiciones especificadas arriba.

% Saturación de Transferrina:

Hombres: 20-50%

Mujeres: 15-50%

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSIONES DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$$UIBC (\text{ug/dl}) \times 0,179 = UIBC (\text{umol/l})$$

$$TIBC (\text{ug/dl}) \times 0,179 = TIBC (\text{umol/l})$$

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
- Limpieza del material: todo el material de laboratorio empleado debe estar libre de hierro, para ello debe ser sumergido durante al menos 6 horas en HCl 10%, eliminando la acidez mediante numerosos lavados con agua libre de hierro. Todo el material debe ser empleado exclusivamente para la determinación de UIBC.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando de acuerdo al documento EP15-A del CLSI (ex-NCCLS), se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
132,46 ug/dl	± 1,07 ug/dl	0,81 %
184,83 ug/dl	± 1,32 ug/dl	0,72 %
416,35 ug/dl	± 5,04 ug/dl	1,21 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
132,46 ug/dl	± 3,73 ug/dl	2,82 %
184,83 ug/dl	± 6,70 ug/dl	3,62 %
416,35 ug/dl	± 7,63 ug/dl	1,83 %

b) Límite de detección: la mínima concentración de UIBC detectable empleando **UIBC/TIBC AA líquida** es 0,2 ug/dl.

c) Límite de cuantificación: la mínima concentración de UIBC detectable empleando **UIBC/TIBC AA líquida** con precisión y exactitud aceptables es 13 ug/dl.

d) Linealidad: la reacción es lineal hasta 500 ug/dl en autoanalizadores y hasta 450 ug/dl en técnica manual.

Para muestras con concentración de UIBC superior a 500 ug/dl en autoanalizadores o 450 ug/dl en técnica manual, diluir al medio manualmente con solución fisiológica y ensayar nuevamente. Multiplicar el resultado por el factor de dilución.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A

- 1 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1492361)

72 ml: - 3 x 20 ml Reactivo A

- 3 x 4 ml Reactivo B

(Cód. 1009286)

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standarol S-E 2 niveles**) con valores conocidos de UIBC/TIBC con cada determinación.

VALORES TEORICOS

Intervalos en adultos:

UIBC:

Hombres: 140-330 ug/dl

Mujeres: 140-346 ug/dl

TIBC: 250-425 ug/dl

72 ml: - 3 x 20 ml Reactivo A
- 3 x 4 ml Reactivo B
(Cód. 1009340)

BIBLIOGRAFIA

- Goodwin, J. et al. - Clin. Chem. 12/2:47-57, 1966.
- Levy, A.L. et al. - Clin. Chem. 7/3:241-248, 1961.
- Burtis,C.A.; Ashwood, E.R., "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry", 5^a edición, 2001.
- Gambino, R. et al. - Clin. Chem. 43/12:2408-2412, 1997.
- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W.; "Clinical Chemistry, Principles and Techniques", Harper & Row, 2^a edición, 1974.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W.; Rinker, A.D.; Morrison, S.R. - Clin. Chem 40/ 4:546-551, 1994.
- Preden-Kerekovic, V. et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 36/5:327-337, 1998.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS), Protocol EP15-A, 2001; EP6-A, 2003; EP17-A, 2004.
- NTP, National Toxicology Program, Department of Health and Human Services, Report of Carcinogens, 2005.

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

[EC REP] Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-28



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina