

COD 11509 4 x 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Reactivos para medir la concentración de hierro Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico



FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El ión férrico presente en la muestra y unido a la transferrina es liberado por acción del guanidinio y reducido a ferroso por la hidroxilamina. El ion ferroso forma un complejo coloreado con la ferrozina que se cuantifica por espectrofotometría^{1,2,3}.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

- A. Reactivo. 4 x 40 mL. Cloruro de guanidinio 1,0 mol/L, hidroxilamina 0,3 mol/L, tampón acetato 0,4 mol/L, pH 4,0.
- B. Reactivo. 4 x 10 mL. Ferrozina 8 mmol/L.
- S. Patrón de Hierro. 1 x 5 mL. Patrón acuoso. La concentración viene indicada en la etiqueta del vial. El valor de concentración es trazable al Material de Referencia Certificado 937 (National Institute of Standards and Technology, USA).

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos y el Patrón son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco superior a 0,050 a 560 nm.
- Patrón: Presencia de partículas, turbidez.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Patrón (S): Está listo para su uso.

Reactivo de Trabajo: Vaciar el contenido de un vial de Reactivo B en un frasco de Reactivo A. Homogeneizar. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 1 mL de Reactivo B + 4 mL de Reactivo A. Estable 6 meses a 2-8°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 560 ± 20 nm.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado recogidos mediante procedimientos estándar.

El hierro en suero o plasma heparinizado es estable 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Atemperar el Reactivo a temperatura ambiente.
- Pipetear en tubos de ensayo: (Notas 1, 2)

	Blanco React.	Blanco Muestra	Muestra	Patrón
Agua destilada	200 µL	—	—	—
Muestra	—	200 µL	200 µL	—
Patrón de Hierro (S)	—	—	—	200 µL
Reactivo (A)	—	1,0 mL	—	—
React. de Trabajo	1,0 mL	—	1,0 mL	1,0 mL

- Agitar bien y dejar durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Leer la absorbancia (A) de los Blancos de Muestra a 560 nm frente a agua destilada.
- Leer la absorbancia (A) de las Muestras y del Patrón a 560 nm frente al Blanco de Reactivos.

CÁLCULOS

La concentración de hierro en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\frac{A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco de Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}} \times C_{\text{Patrón}} = C_{\text{Muestra}}$$

VALORES DE REFERENCIA

Suero y plasma⁴

Hombres: 65 - 175 µg/dL = 11,6 - 31,3 µmol/L
 Mujeres: 50 - 170 µg/dL = 9,0 - 30,4 µmol/L

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control de Bioquímica niveles I (cod. 18005 y 18009) y II (cod. 18007 y 18010) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 4 µg/dL hierro = 0,71 µmol/L hierro
- Límite de linealidad: 1000 µg/dL hierro = 179 µmol/L hierro. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/2 con agua destilada y repetir la medición.

Repetibilidad (intra-serie):

Concentración media de hierro	CV	N
103 µg/dL = 18,4 µmol/L	2,2 %	20
305 µg/dL = 54,6 µmol/L	0,7 %	20

Reproducibilidad (inter-serie):

Concentración media de hierro	CV	n
103 µg/dL = 18,4 µmol/L	2,9 %	25
305 µg/dL = 54,6 µmol/L	2,2 %	25

Sensibilidad: 88 mA·dL/µg = 4,86 mA·L/µmol

- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia (Nota 3). Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Interferencias: La bilirrubina (< 20 mg/dL) no interfiere. La hemolisis y la lipemia (triglicéridos > 15 g/L) interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁵.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

El hierro está distribuido en el organismo en diferentes compartimentos: hemoglobina, mioglobina, tisular (principalmente en el hígado, bazo y médula ósea). Solamente el 0,1% del hierro total del organismo se encuentra en el plasma.

La concentración sérica de hierro resulta afectada por numerosas condiciones fisiológicas o patológicas. La variabilidad interdiaria es bastante elevada en personas sanas.

Las principales alteraciones del metabolismo del hierro son la deficiencia de hierro y la sobrecarga de hierro. No obstante, pueden también encontrarse alteraciones del hierro en diversas enfermedades.

El hierro sérico se encuentra aumentado en hemocromatosis, en envenenamiento agudo por hierro, en cirrosis activa o hepatitis aguda y como resultado de concentraciones elevadas de transferrina^{4,6}.

La concentración de hierro en suero se encuentra disminuida en muchos pero no en todos los pacientes con anemia por deficiencia de hierro y en alteraciones crónicas inflamatorias. La medición de hierro sérico no debe ser utilizada como prueba para la identificación de una deficiencia de hierro^{4,6}.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

- Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.
- El material utilizado en el procedimiento debe estar completamente exento de hierro. Se aconseja utilizar material desechable o lavarlo con ácido nítrico al 50 % (v/v).
- La calibración con el patrón acuoso puede causar sesgos, especialmente en algunos analizadores. En estos casos, se recomienda calibrar usando un patrón de base sérica (Calibrador de Bioquímica, cod. 18011).

BIBLIOGRAFÍA

- Stookey LL. Ferrozine-A new spectrophotometric reagent for iron. *Anal Chem* 1970; 42: 779-81.
- Itano M. Serum Iron Survey. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 516-522.
- Artiss JD, Vinogradov S, Zak B. Spectrophotometric study of several sensitive reagents for serum iron. *Clin Biochem* 1981; 14: 311-315.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.