

Para uso en el diagnóstico in Vitro

SIGNIFICANCIA CLÍNICA

El contenido de hierro en el cuerpo humano se encuentra distribuido en tres formas: el almacenado, que se encuentra dentro de las células; el hierro en uso, que se encuentra en la hemoglobina, enzimas y varios tipos de proteínas; y el circulante. Prácticamente todo el Hierro corporal se encuentra unido a proteína, dado que no sólo es relativamente insoluble, sino que además es tóxico.

La evaluación de la concentración de hierro sérico es de gran utilidad, dado que un aumento en sus niveles se encuentra asociado a diversas patologías tales como destrucción aumentada de los glóbulos rojos, defectos en el mecanismo de almacenaje, etc. De la misma manera, su disminución se asocia entre otras patologías a problemas de absorción y almacenaje, etc.

FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

El hierro sérico se determina disociando el Fe (III) unido a proteínas mediante un buffer ácido que contiene como reductor clorhidrato de hidroxilamina. El Fe (II) producto de esta etapa reacciona con el agente cromogénico generando un complejo coloreado que se mide fotométricamente a 560 nm.

REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición de los Reactivos:

Reactivo 1	Medida
Buffer acetato pH 4.5	220 mM
Hidroxilamina clorhidrato	100 mM
Surfactantes y estabilizantes	c.s.

Reactivo 2	Medida
Ferrozina	16.7 mM
Hidroxilamina clorhidrato	100 mM

Solución Standard	Medida
Fe(II) en hidroxilamina clorhidrato	500 µg/dl

Preparación del Reactivo de Trabajo: Los reactivos se proveen listo para su uso.

MUESTRA

Utilizar suero libre de hemólisis, de preferencia fresco, o plasma heparinizado. No se recomienda el uso de otros anticoagulantes, dado que pueden incrementar falsamente los valores de la ferremia. El hierro sérico es estable por cuatro días a temperatura ambiente y ocho días entre 2° y 8°C.

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Espectrofotómetro manual o automático, o fotocolorímetro de filtros, capaz de leer absorbancia a 560 nm (rango 540 - 570 nm), baño termo-regulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

TÉCNICA

SIN BLANCO MUESTRA

TUBO		Blanco	Standard	Muestra
Buffer Acido	(mL)	2,50	2,50	2,50
Agua destilada	(mL)	0,50	----	----
Standard	(mL)	----	0,50	----
Muestra	(mL)	----	----	0,50
Mezclar y leer las absorbancias (A1) contra el blanco reactivo a 560				
Reactivo Color	(mL)	0,05	0,05	0,05
Mezclar e incubar a 37°C por 10 minutos. Leer las absorbancias (A2) contra el blanco reactivo a 560 nm. Determine las diferencias de absorbancias restando A2 – A1.				

CÁLCULOS

$$Ferremia = \frac{A2 \text{ muestra} - A1 \text{ muestra}}{A2 \text{ standard} - A1 \text{ standard}} \times 500$$

CON BLANCO MUESTRA

TUBO		Bl.React	Stand.	Bl.Mues	Muestra
Buffer Acido	(mL)	2,50	2,50	2,50	2,50
Agua destilada	(mL)	0,50	----	----	----
Standard	(mL)	----	0,50	----	----
Muestra	(mL)	----	----	0,50	0,50
Reactivo Color	(mL)	0,05	0,05	----	0,05
Mezclar e incubar a 37°C por 10 minutos. Leer las absorbancias contra el blanco reactivo a 560 nm.					

CÁLCULOS

$$Ferremia = \frac{Abs. \text{muestra} - Abs. \text{BL. muestra}}{Abs. \text{standard}} \times 500$$

CALIBRACIÓN

- Es posible utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código 8002103) en reemplazo del standard provisto. Para los cálculos reemplazar el valor 500 por la concentración del calibrador.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
- El lote de reactivo cambia
- Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
- Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Ferremia por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 8002101) y VALTROL-P (código 8002104).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
2. **IMPORTANTE:** Todo el material a utilizar debe estar libre de hierro, se sugiere lavarlo con una solución de ácido clorhídrico diluido 1:3 y enjuagar exhaustivamente con agua destilada o desionizada antes de utilizarlo.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO

-Linealidad: Esta técnica es lineal hasta 500 µg/dl

Para valores superiores 500 µg/dl diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 2 µg/dl

-Interferencias: Hemólisis, bilirrubina sobre 20 mg/dl y la lipemia podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (4).

-Reproducibilidad Inter serie: n = 10

Nivel	Media (mg/dl)	C.V %
Normal	99.6	1.84%
Patológico	152.4	2.35%

Estos datos han sido obtenidos utilizando la técnica manual. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento

- Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Recién nacido: 100 - 250 µg/dl
Niños: 50 - 120 µg/dl

Adultos
Hombres: 50 - 160 µg/dl
Mujeres: 40 - 150 µg/dl

NOTA: Los valores de la Ferremia varían en los recién nacidos y niños, éstos deben ser establecidos en cada laboratorio.

PRESENTACIONES DISPONIBLES

Contenido:
50 determinaciones

REFERENCIAS

1. Tietz, N.W. (ed) Fundamentals of Clinical Chemistry W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1976.
2. Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. Harper and Row Publishers. New York, 1964.
3. Young, D.S., et al., Clin Chem. 18(10), 1972
4. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.