

FERROZINE

Para la determinación cuantitativa del hierro y capacidad total de fijación del hierro en suero humano.

SIGNIFICADO CLINICO:

El Hierro en el cuerpo humano es un marcador fundamental y su diagnóstico a nivel celular alerta la deficiencia del mineral en la sangre. Mujeres, niños son los mas afectados y es una problemática a nivel de países en el mundo. El hierro por sí solo no se encuentra en el organismo, sino que está unido a algún tipo de proteína, por lo tanto, es importante el diagnostico del hierro y la capacidad de la unión del hierro en la muestra.

El diagnostico es de ayuda diferencial de los tipos de anemia y enfermedades del hígado.

El reactivo de Bialex es un sistema para la determinación del hierro y la capacidad de unión del hierro.

FUNDAMENTO DEL METODO:

El hierro en estado Fe(III) – complejo transferrina en el suero, es agregado un buffer de acetato conteniendo hidrocloreto de hidroxilamina en un pH de 4.5, esta adición reduce de Fe(III) a Fe(II). El agente cromógeno forma un complejo coloreado fuerte de Fe(II) el cual se mide fotométricamente a 560nm.

El hierro no saturado (UIBC) se determina mediante la adición de hierro Fe(II) a suero para que se fije la unión no saturados de transferrina. El excedente de Fe(III) reacciona con los iones ferrozine para formar un complejo de color que se mide fotométricamente. La diferencia entre la cantidad de Fe(II) añadido y la cantidad de Fe (II), medido resulta la union del hierro no saturado. La fijación total del hierro (TIBC) se determina sumando el valor del hierro en suero para el valor UIBC.

COMPOSICION DEL REACTIVO Y MATERIALES

PREVISTOS:

- 1. Buffer (BUFFER):** Acetato 220mM, Hidrocloreto de hidroxilamina pH 4.5 con tensoactivo.
- 2. Reactivo UIBC (UIBC):** Tris 0.5M. pH 8.0, tensoactivo no iónico.
- 3. Reactivo de Color (Color):** Ferrozine 17mM en medio hidrocloreto de hidroxilamina.
- 4. Estándar de Hierro:** Hierro estandarizado 500µg/DI

MATERIALES NO PROVISTOS PERO REQUERIDOS:

1. Agua desionizada.
2. Materiales preanalíticos como pipetas, tubos de ensayo.
3. Espectrofotómetro con filtro de 560nm
4. Cronometro
5. Baño maría

Nota: Utilice materiales vírgenes para el ensayo.

Puede usar tubos previamente lavados con ácido nítrico diluido y enjuagado con abundante agua deionizada.

ALMACENAMIENTO, ESTABILIDAD Y RECOLECCION DE LA MUESTRA:

El kit debe ser almacenado de 15 a 30°C

El reactivo es estable hasta la fecha indicada en el kit.

Suero fresco no hemolizado debe ser usado para el procedimiento del ensayo. El suero debe ser recolectado tan pronto como el coagulo se ha formado.

Plasma heparinizado puede ser utilizado, pero otros anticoagulantes no deben ser utilizados para evitar la posible contaminación con hierro.

El hierro sérico es estable hasta 4 días a temperatura ambiente y 7 días de 2 a 8°C

NO UTILICE EL REACTIVO SI:

Al usar los controles de PassCheck de Bialex o Lyphocheck de Biorad, no se encuentran en los valores indicados para los dos niveles.

No usar si el reactivo ha estado mal almacenado y tiene signos de deterioro en su caja, además si algunos de sus componentes están turbios.

INTERFERENCIAS:

- 1.- Muestra hemolizadas deben de rechazarse.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

Hierro Sérico:

Rotule los tubos como: blanco, estándar, muestra o control

Lleve el equipo a 560nm

	Blanco de reactivo	Estándar	Muestra o control
BUFFER	2.5mL	2.5mL	2.5mL
Muestra o control	0.5mL	0.5mL	0.5mL

Agua Desionizada	0.5mL	----	----
Agite y lleve a cero con el blanco de reactivo, lea todos los tubos, registre como A1			
COLOR	0.05mL	0.05mL	0.05mL
Coloque los tubos a 37°C por 10 minutos			
lleve a cero con el blanco de reactivo, luego lea los demás tubos, y anote como A2			

CALCULOS DEL PROCEDIMIENTO:

$$\frac{\text{Abs}_2 \text{ Muestra} - \text{Abs}_1 \text{ Muestra}}{\text{Abs}_2 \text{ Std} - \text{Abs}_1 \text{ Std}} \times [\text{STD}] = \text{Hierro Total (ug/dL)}$$

UIBC:

	Blanco de reactivo	Estándar	Muestra o control
UIBC	2mL	2mL	2mL
Agua desionizada	1mL	0.5mL	
Estandar	----	0.5mL	----
Mezclar y lleve a cero con blanco de reactivo a 560nm, lea los tubos como A1			
COLOR	0.05mL	0.05mL	0.05mL
Mezclar y lleve los tubos a 37°C por 10 minutos, luego lleve a cero con blanco de reactivo a 560nm, lea los tubos como A2			

CALCULOS DEL PROCEDIMIENTO:

$$[\text{STD}] - \frac{\text{Abs}_2 \text{ Muestra} - \text{Abs}_1 \text{ Muestra}}{\text{Abs}_2 \text{ Std} - \text{Abs}_1 \text{ Std}} \times [\text{STD}] = \text{UIBC (ug/dL)}$$

Nota: La diferencia entre A1 y A2, puede ser mínima debido a la poca saturación de la transferrina con el hierro. Las muestras deben ser diluidas con agua desionizadas y repetir el ensayo multiplicando el resultado por el factor de dilución.

CALCULO TIBC:

Nivel de Hierro + UIBC = TIBC (µg/dL)

Para el unidades en el SI: µg/dL x 0.179 = µmol/L

CONTROL DE CALIDAD:

Utilice controles PassCheck de Bialex o Lypchocheck de Biorad.

LINEALIDAD:

El reactivo es lineal hasta 500 µg/dL

BIBLIOGRAFIA:

1. Henry, J.B. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, Philadelphia, W.B. Saunders, P.1434 (1.984).
2. Tietz, N.W., *Fundamentals of Chemistry*, Philadelphia, W.B., Saunders, pp. 923-929 (1976).
3. Zak, B., et al., *Ann. Clin. and Lab. Science*.
4. Young, D.S. et al, *Clin. Chem.* 21:10 (1975)



Bialex Lab
717 Ohio Ave.
Wichita Falls, TX76301