

Hierro MonlabTest®



FerroZine. Colorimétrico

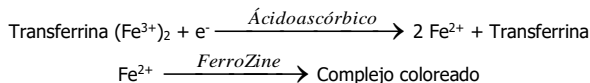


Determinación cuantitativa de hierro

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El hierro se disocia del complejo sérico hierro-transferrina en medio ácido débil. El hierro libre se reduce a ión ferroso mediante el ácido ascórbico. Los iones ferrosos en presencia de FerroZine forma un complejo coloreado:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de hierro en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El hierro es el constituyente de un gran número de enzimas. La mioglobina, proteína muscular, contiene hierro, así como el hígado.

El hierro es necesario para la producción de hemoglobina, molécula que transporta el oxígeno en el interior de los glóbulos rojos. Su déficit causa anemia ferropénica. Se encuentran niveles elevados de hierro en la hemocromatosis, cirrosis, hepatitis aguda y en concentraciones altas de transferrina. La variación día a día es común en poblaciones sanas^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R1 Tampón	Acetato pH 4,9	100 mmol/L
R2 Reductor	Ácido ascórbico	99,7%
R3 Color	FerroZine	40 mmol/L
CAL Hierro	Patrón primario acuoso de Hierro	100 µg/dL

PRECAUCIONES

R1: H302. Nocivo en caso de ingestión. H315. Provoca irritación cutánea. H319. Provoca irritación ocular grave. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):
- MO-165149: Disolver (→) el contenido de un tubo de R2 Reductor en un frasco de R1 Tampón.
Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.
Estabilidad: 3 meses a 2-8°C o 1 mes a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 562 nm ≥ 0,020.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 562 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 2).

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado.
Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematíes.
Estabilidad de la muestra: El hierro es estable de 7 días a 2-8°C¹.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 562 nm (530-590)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15- 25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta^(Nota 4):

	Blanco Reactivo	Patrón	Blanco Muestra	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
R3 (gotas)	1	1	--	1
Agua destilada (µL)	200	--	--	--
Patrón ^(Nota 1,3) (µL)	--	200	--	--
Muestra (µL)	--	--	200	200

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a temperatura ambiente.
- Leer las absorbancias (A) del Patrón y la muestra frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco Muestra} - (A) \text{ Blanco Reactivo}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco Reactivo}} \times 100 (\text{Conc. Patrón}) = \mu\text{g/dL Hierro}$$

Factor de conversión: µg/dL x 0,179 = µmol/L

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: CONTROL Normal y Patológico (MO-165107 y MO-165108). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el Patrón. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA^(Nota 5)

Hombres 65 – 175 µg/dL ≅ 11,6- 31,3 µmol/L^(Nota5)
Mujeres 40 – 150 µg/dL ≅ 7,16 – 26,85 µmol/L^(Nota5)
Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,850 µg/dL hasta el límite de linealidad de 1000 µg/dL. Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (µg/dL)	113	250	111	249
SD	0,89	0,72	3,51	6,29
CV (%)	0,79	0,29	3,17	2,52

Sensibilidad analítica: 1 µg/dL = 0,00104 A.

Exactitud: Los reactivos MonlabTest no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,9934.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,0243x – 3,877.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Desechar las muestras hemolizadas, ya que los hematíes contienen hierro y pueden dar falsos resultados positivos^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del hierro^{3,4}.

NOTAS

- CAL Hierro: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso. Si se usa material de vidrio sumergirlo durante 6 h en HCl diluido (20%, v/v), enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- Los valores de referencia son altamente dependientes del método utilizado.
- MONLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Perrotta G. Iron and iron-binding capacity. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1063-1065.
- Itano M M D. Cap Serum Iron Survey 1978 (70): 516-522.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

MO-165149
R1: 2 x 50 mL
R2: 2 x 500 mg
R3: 1 x 10 mL
CAL Hierro: 1 x 10 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad



IRON MonlabTest®



FerroZine. Colorimetric.

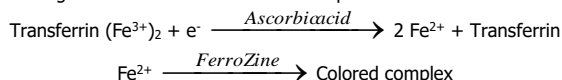


Quantitative determination of Iron

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 2-8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The iron is dissociated from transferring-iron complex in weakly acid medium. Liberated iron is reduced into the bivalent form by means of ascorbic acid. Ferrous ions give with FerroZine a colored complex:



The intensity of the color formed is proportional to the iron concentration in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The iron is the component of a great number of enzymes. The myoglobin, muscular protein, contains iron, as well as the liver. Iron is necessary for the hemoglobin production, molecule that transports oxygen inside red globules. Their deficit in the last causes the ferropenic anemia. High levels of iron are found in hemochromatosis, cirrhosis, hepatitis and in increased transferrin levels.

The variation day to day is quite marked in healthy people^{1,5,6}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R1 Buffer	Acetate pH 4.9	100 mmol/L
R2 Reductant	Ascorbic acid	99.7%
R3 Color	FerroZine	40 mmol/L
IRON CAL	Iron aqueous primary standard	100 µg/dL

PRECAUTIONS

R1: H302-Harmful if swallowed. H315-Causes eye irritation. H319-Causes serious eye irritation.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

Working reagent (WR):
- MO-165149: Dissolve (→) the contents of one tube R2 Reductant in one bottle of R1 Buffer.
Cap and mix gently to dissolve contents.
Stability: 3 months at 2-8°C or 1 month at 15-25°C.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.
Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:
- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 562 nm ≥ 0.020.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 562 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment ^(Note 2)

SAMPLES

- Serum or heparinized plasma.
- Free of hemolysis and separated from cells as rapidly as possible.
- Stability of the sample: 2-8°C for 7 days¹.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 562 nm (530-590)
Cuvette: 1 cm light path
Temperature: 37°C / 15- 25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette ^(Note 4):

	Reagent Blank	Standard	Sample Blank	Sample
WR (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0
R3 (drops)	1	1	--	1
Distilled water (µL)	200	--	--	--
Standard ^(Note 1,3) (µL)	--	200	--	--
Sample (µL)	--	--	200	200

- Mix and incubate for 5 minutes at 37°C or 10 minutes at room temperature.

- Measure the absorbance (A) of Standard and sample against reagent blank. The color is stable for at least 30 minutes.

CALCULATIONS

$$\frac{(A)_{\text{Sample}} - (A)_{\text{Sample Blank}} - (A)_{\text{Reagent Blank}}}{(A)_{\text{Standard}} - (A)_{\text{Reagent Blank}}} \times 100 \text{ (Standard conc.)} = \mu\text{g/dL iron}$$

Conversion factor: µg/dL x 0.179 = µmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: CONTROL Normal and Pathologic (MO-165107 and MO-165108). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES ^(Note 5)

Male	65 – 175 µg/dL	≅ 11.6 – 31.3 µmol/L ^(Note 5)
Female	40 – 150 µg/dL	≅ 7.16 – 26.85 µmol/L ^(Note 5)

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0.850 µg/dL to linearity limit of 1000 µg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (µg/dL)	113	250	111	249
SD	0.89	0.72	3.51	6.29
CV (%)	0.79	0.29	3.17	2.52

Sensitivity: 1 µg/dL = 0.00104 A.

Accuracy: Results obtained using MonlabTest reagents did not show systematic differences when compared with other commercial reagents.

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0.9934.

Regression equation: y = 1.0243x – 3.877.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Hemolyzed samples are rejected, since erythrocytes contain iron and therefore falsely elevate the serum results^{1,2}. A list of drugs and other interfering substances with iron determination has been reported^{3,4}.

NOTES

- IRON CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- It is recommended to use disposable material. If glassware is used the material should be soaking for 6 h in diluted HCl (20% v/v) and then thoroughly rinsed with distilled water and dried before use.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- The reference values are strongly method dependent.
- MONLAB has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

- Perrotta G. Iron and iron-binding capacity. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1063-1065.
- Itano M M D. Cap Serum Iron Survey 1978 (70): 516-522.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

MO-165149	R1: 2 x 50 mL
	R2: 2 x 500 mg
	R3: 1 x 10 mL
	CAL Iron: 1 x 10 mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by

