



Fer-color

AA

Método colorimétrico directo para la determinación de hierro en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

El hierro se distribuye en el organismo de diferentes maneras, incluyendo hemoglobina, hierro tisular y mioglobina. El transporte de hierro de un órgano a otro se realiza mediante una proteína transportadora llamada apotransferrina. El complejo que forma con el hierro se conoce como transferrina.

La ferritina, localizada en casi todas las células del cuerpo, constituye una reserva de hierro disponible para la formación de la hemoglobina y otras proteínas que contienen el grupo hemo. La absorción de hierro ocurre principalmente en el duodeno. Tanto la ferritina como la transferrina están presentes en las células de la mucosa intestinal y juntas regulan la absorción de hierro.

Los mayores desórdenes del metabolismo de hierro se relacionan con su deficiencia o exceso, sin embargo, se han observado alteraciones en muchas otras enfermedades, incluyendo anemia, enfermedades cardiovasculares, hepatitis crónica, enfermedades renales e infecciones.

La anemia por pérdida de hierro representa uno de los trastornos orgánicos más frecuentes, especialmente en niños, mujeres jóvenes, embarazadas y ancianos. También las úlceras gástricas o duodenales y carcinomas de estómago, constituyen causas de anemia ferropénica.

Por el contrario, el exceso de hierro se asocia con otros desórdenes, como hemosiderosis, hemocromatosis y anemia sideroblástica.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El hierro sérico se libera de la unión con su proteína transportadora específica, la transferrina, en buffer acetato pH 4,5 y en presencia de un reductor, el ácido ascórbico. Posteriormente reacciona con el reactivo de color, piridil bisfenil triazina sulfonato (ferrozina) dando un complejo color magenta, que se mide a 560 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de acetato 150 mmol/l para pH 4,5, conteniendo guanidina.

B. Reactivo B: ácido ascórbico.

C. Reactivo C: solución estabilizada de ferrozina.

S. Standard: solución de iones Fe (III) equivalente a 100 ug/dl.

Concentraciones finales

Acetato	150 mmol/l, pH 4,5
Ferrozina	0,2 mmol/l
Acido ascórbico	0,03 mol/l
Guanidina	4,0 mol/l

REACTIVOS NO PROVISTOS

- **Calibrador A plus** de Wiener lab.

- Agua bidestilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo C: listo para usar.

Standard: listo para usar.

Reactivo de Trabajo: transferir al vial de Reactivo B la cantidad de Reactivo A indicada en el rótulo. Colocar fecha de preparación.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

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 temperatura ambiente (< 25°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo de Trabajo: es estable durante 3 meses a partir de la fecha de su preparación conservado en refrigerador (2-10°C) o 10 días a temperatura ambiente (18-25°C).

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.). Un aumento en el valor de los Blancos indicará una contaminación con hierro.

MUESTRA

Suero o plasma

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 hemoglobina hasta 90 mg/dl, bilirrubina hasta 15 mg/dl y heparina hasta 50 UI/ml.

Muestras lipémicas pueden conducir a resultados erróneos. Niveles de triglicéridos de 3,72 g/l producen interferencias.

Si bien hemólisis ligeras no interfieren con este método, el

International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) recomienda el uso de suero libre de hemólisis.

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

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero o plasma heparinizado pueden conservarse hasta una semana en refrigerador (2-10°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 560 nm en espectrofotómetro o 540-560 nm en fotocolorímetro con filtro verde.
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente
- Tiempo de reacción: 5 minutos
- Volumen de muestra: 200 ul
- Volumen total de reacción: 1,4 ml

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco de Reactivos), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Agua bidestilada	200 ul	-	-
Standard	-	200 ul	-
Muestra	-	-	200 ul
Reactivo de Trabajo	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar. Leer la absorbancia del tubo D (Blanco de Suero BS) en espectrofotómetro a 560/580 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (540/560 nm) llevando a cero el aparato con agua. Luego agregar:

Reactivo C	200 ul	200 ul	200 ul
------------	--------	--------	--------

Mezclar inmediatamente. Volver a leer cada tubo a los 5 minutos, llevando el aparato a cero con agua.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

Los tubos deben ser leídos entre 5 y 60 minutos luego de completados los pasos del procedimiento.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Corregir las lecturas de S y D, restándoles los Blancos correspondientes:

S - B = S corregida

D - (B + BS) = D corregida

Fe (ug/dl) = D corregida x f

$$\text{donde: } f = \frac{100 \text{ ug/dl}}{\text{S corregida}}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad

(Standatrol S-E 2 niveles) con concentraciones conocidas de hierro, con cada determinación.

VALORES TEORICOS

Hombres: 65 a 175 ug/dl (11,6-31,3 umol/l)

Mujeres: 50 a 170 ug/dl (9-30,4 umol/l)

VALORES DE REFERENCIA

En un grupo de 20 mujeres y 20 varones sanos, con edades oscilando entre los 18 y 51 años, se halló un rango de 55 a 175 ug/dl* con los siguientes promedios:

Hombres: 114,6 ug/dl (20,5 umol/l)

Mujeres: 103,3 ug/dl (18,5 umol/l)

*Valores de referencia extraídos de archivos de Wiener lab. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Hierro (ug/dl) x 0,179 = Hierro (umol/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Valores de Blanco aceptables: la determinación de oligoelementos requiere la prevención de posibles contaminaciones del agua y los reactivos. El Blanco de Reactivos, ejecutado de acuerdo al Manual de Instrucciones, no debe ser superior a 0,150 D.O. debiendo ser además, despreciable la contribución del agua en dicho Blanco. Para ello se recomienda el uso de agua de calidad comprobada (conductividad menor a 0,02 uOhms).
- Limpieza del material: todo el material de laboratorio empleado debe estar libre de hierro, para lo cual debe ser sumergido durante 6 horas en HCl p.a. 10-15%, eliminando la acidez con numerosos lavados con agua libre de hierro. Secar el material preferentemente a no más de 80°C en cestillas de acero inoxidable o revestidos con plástico. Todo el material debe ser empleado exclusivamente para la determinación de hierro.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

Nivel	D.S.	C.V.
146,5 ug/dl	± 1,93 ug/dl	1,32 %
324,6 ug/dl	± 1,76 ug/dl	0,54 %

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvieron los siguientes resultados:

Nivel	D.S.	C.V.
142,8 ug/dl	± 2,50 ug/dl	1,75 %
314,0 ug/dl	± 3,93 ug/dl	1,25 %

b) Recuperación: agregando cantidades conocidas de Fe (II) a alícuotas de un mismo suero, se recuperó entre 90 y 103%.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 1000 ug/dl.

d) Límite de detección: 6,05 ug/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del Analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Calibrador A plus** de Wiener lab., de acuerdo a los requerimientos del analizador.

PRESENTACION

- 5 x 20 ml (Cód. 1492003).

BIBLIOGRAFIA

- Dixon, K. - Ann. Clin. Biochem. 10/5:127 (1973).
- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543 (1971).
- Zak, B.; Baginski, E.S.; Epstein, E. y Wiener, L.M. - Clin. Toxicol. 4/4:621 (1971).
- Rojkín, M.L.; Olgún de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Albarrracín, A. - III Congreso Argentino de Bioquímica - Buenos Aires (1975).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS

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"

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 / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Fer-color

AA

Método colorimétrico direto para a determinação de ferro em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

O ferro encontra-se distribuído no organismo em diferentes formas que incluem: hemoglobina, ferro tissular e mioglobina. O transporte de ferro de um órgão a outro realiza-se mediante uma proteína transportadora: a apotransferrina.

O complexo formado com o ferro é conhecido como transferrina.

A ferritina, localizada em quase todas as células do corpo, constitui uma reserva de ferro disponível para a formação da hemoglobina e outras proteínas que contêm o grupo hemo. A absorção de ferro é realizada principalmente no duodeno. Tanto a ferritina como a transferrina encontram-se nas células da mucosa intestinal e ambas regulam a absorção de ferro.

Os mais grandes desordens do metabolismo de ferro relacionam-se com a deficiência ou excesso. No entanto, observam-se alterações em muitas outras doenças como anemia, doenças cardiovasculares, hepatite crônica, doenças renais e infecções.

A anemia por perda de ferro representa um dos transtornos orgânicos mais frequentes, principalmente em crianças, mulheres jovens, grávidas e idosos. Também constituem causas de anemia ferropênica as úlceras gástricas ou duodenais e carcinoma de estômago.

Por outra parte, o excesso de ferro associa-se com outros desordens como hemossiderose, hemocromatose e anemia sideroblástica.

FUNDAMENTO DO MÉTODO

O ferro sérico libera-se de sua ligação com sua proteína transportadora específica, a transferrina, tampão acetato de pH 4,5 e em presença de um redutor, o ácido ascórbico. Depois reage com o reagente de cor, piridil bis-fenil triazina sulfonato (ferrozina) obtendo-se um produto de cor magenta, que se mede a 560 nm.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução de acetato 150 mmol/l para pH 4,5 contendo guanidina.

B. Reagente B: ácido ascórbico.

C. Reagente C: solução estabilizada de ferrozina.

S. Padrão: solução de íons Fe (III) equivalem a 100 µg/dl.

Concentrações finais

Acetato	150 mmol/l, pH 4,5
Ferrozina	0,2 mmol/l
Ácido ascórbico	0,03 mol/l
Guanidina	4,0 mol/l

REAGENTE NÃO FORNECIDO

- **Calibrador A plus** da Wiener lab.

- Água destilada.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente C: pronto para uso.

Padrão: pronto para uso.

Reagente de Trabalho: transferir ao frasco de Reagente B a quantidade de Reagente A indicada no rótulo. Colocar a data de preparo.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob temperatura ambiente (< 25°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Reagente de Trabalho: é estável por 3 meses a contar da data de sua preparação conservado sob refrigeração (2-10°C) ou por 10 dias sob temperatura ambiente (18-25°C).

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Variações nas leituras de Brancos de Reagentes e/ou Padrão, são indícios de contaminações ocasionais (água, material de vidro, etc.). Aumento no valor dos Brancos indicará uma contaminação com ferro.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: o paciente deve estar em jejum, sendo que as extrações devem ser realizadas sempre na mesma hora (preferencialmente de manhã) já que as oscilações fisiológicas são muito importantes durante o dia.

b) Aditivos: se a amostra é plasma deverá utilizar-se heparina como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observa interferência pela hemoglobina até 90 mg/dl, bilirrubina até 15 mg/dl, nem heparina até 50 UI/ml.

Amostras lipêmicas podem levar a resultados errôneos.

Níveis de triglicérides de 3,72 g/l produzem interferências. Embora hemólises ligeiras não interferem com este método,

o International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) recomenda a utilização de soro livre de hemólise.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: o soro e o plasma heparinizado podem ser conservados até uma semana sob refrigeração (2-10°C).

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos ou cubetas espectrofotométricas.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 560 nm em espectrofotômetro ou 540-560 nm em fotocolorímetro com filtro verde.
- Temperatura de reação: temperatura ambiente
- Tempo de reação: 5 minutos
- Volume de amostra: 200 ul
- Volume total de reação: 1,4 ml

PROCEDIMENTO

Em três tubos marcados B (Branco de Reagente), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Água bidestilada	200 ul	-	-
Padrão	-	200 ul	-
Amostra	-	-	200 ul
Reagente de Trabalho	1 ml	1 ml	1 ml

Misturar. Ler a absorbância do tubo D (Branco de Soro BS) em espectrofotômetro a 560/580 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (540/560 nm) levando a zero o aparelho com água. Depois adicionar:

Reagente C	200 ul	200 ul	200 ul
------------	--------	--------	--------

Misturar imediatamente. Voltar a ler cada tubo em 5 minutos, levando o aparelho a zero com água.

ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

Os tubos devem ser lidos entre 5 e 60 minutos após completados os passos do procedimento.

CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Corrigir as leituras de P e D, subtraindo os Brancos correspondentes:

P - B = P corrigido

D - (B + BS) = D corrigida

Fe (ug/dl) = D corrigida x f

$$\text{onde: } f = \frac{100 \text{ ug/dl}}{\text{P corrigido}}$$

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar dois níveis de um material de controle de qua-

lidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de ferro, com cada determinação.

VALORES TEÓRICOS

Homens: 65 a 175 ug/dl (11,6-31,3 umol/l)

Mulheres: 50 a 170 ug/dl (9-30,4 umol/l)

VALORES DE REFERÊNCIA

Em um grupo de 20 mulheres e 20 homens sadios, com idades entre os 18 e 51 anos, foram encontradas faixas de 55 a 175 ug/dl* com as seguintes médias:

Homens: 114,6 ug/dl (20,5 umol/l)

Mulheres: 103,3 ug/dl (18,5 umol/l)

*Valores de referência extraídos de arquivos da Wiener lab. É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Ferro (ug/dl) x 0,179 = Ferro (umol/l)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Valores de Branco aceitável: a determinação de oligoelementos comprometem as possíveis contaminações de água e os reagentes. O Branco de Reagente, realizado segundo o Manual de Instruções, não deve superar 0,150 D.O. devendo ser ainda desprezível a contribuição de água no Branco. Para poder ser controlado, recomenda-se o uso de água de qualidade comprovada (condutibilidade menor a 0,02 uOhms).
- Limpeza do material: todo o material do laboratório utilizado deve estar livre de ferro, submergindo-o durante 6 horas em HCl p.a. 10-15%, eliminando a acidez com vários lavados com água livre de ferro. Enxugar o material perfeitamente à temperatura não superior a 80°C em cesto de aço inoxidável ou recoberto com plástico. Todo o material deve ser utilizado só para a determinação de ferro.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando duplicatas das mesmas amostras no mesmo dia, foram obtidos os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
146,5 ug/dl	± 1,93 ug/dl	1,32 %
324,6 ug/dl	± 1,76 ug/dl	0,54 %

Processando a mesma amostra em diferentes dias, obteve-se o seguinte:

Nível	D.S.	C.V.
142,8 ug/dl	± 2,50 ug/dl	1,75 %
314,0 ug/dl	± 3,93 ug/dl	1,25 %

b) Recuperação: adicionar quantidades conhecidas de Fe (II) a alíquotas de um mesmo soro, recuperou-se entre 90 e 103%.

c) Linearidade: a reação é linear até 1000 ug/dl.

d) Limite de detecção: 6,05 ug/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador

a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar **Calibrador A plus** da Wiener lab., segundo os requerimentos do analisador.

APRESENTAÇÃO

- 5 x 20 ml (Cód. 1492003).

REFERÊNCIAS

- Dixon, K. - Ann. Clin. Biochem. 10/5:127 (1973).
- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543 (1971).
- Zak, B.; Baginski, E.S.; Epstein, E. y Wiener, L.M. - Clin. Toxicol. 4/4:621 (1971).
- Rojkin, M.L.; Olguín de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Albarracín, A. - III Congreso Argentino de Bioquímica - Buenos Aires (1975).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Uso médico-diagnóstico "in vitro"
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data de validade
	Limite de temperatura (conservar a)
	Não congelar
	Risco biológico
	Volume após a reconstituição
	Conteúdo
	Número de lote
	Elaborado por:
	Nocivo
	Corrosivo / Caústico
	Irritante
	Consultar as instruções de uso
	Calibrador
	Controle
	Controle Positivo
	Controle Negativo
	Número de catálogo



Fer-color

AA

Direct colorimetric method for the determination of iron in serum or plasma

SUMMARY

Iron is distributed in the body in different ways, including hemoglobin, tissue iron and myoglobin. Iron transport from one organ to another is performed by a carrier protein called apotransferrin. This complex is known as transferrin.

Ferritin, present in most cells, constitutes an iron reservoir available for hemoglobin formation and further proteins containing the hemo group. Iron absorption is mainly produced in the duodenum. Both ferritin and transferrin are present in the intestinal mucous membrane cells and together they regulate iron absorption.

The main metabolism disorders are related to their deficiency or excess; however, alterations have been observed in many other diseases, including anemia, cardiovascular diseases, chronic hepatitis, renal diseases and infections.

One of the most frequently organic disorders found in clinical practice is the anemia caused by iron loss. It is usually observed in children, young and pregnant women, and the elderly. Gastric or duodenal ulcers and stomach carcinoma may also lead to ferropenic anemia.

On the contrary, the iron excess is associated to other disorders such as hemosiderosis, hemochromatosis and sideroblastic anemia.

PRINCIPLE

Serum iron is released from its specific carrier protein (transferrin) in pH 4.5 acetate buffer and in the presence of a reducing agent (ascorbic acid). Then it reacts with the color reagent, pyridyl bis-phenyl triazine sulfonate (ferrozine) producing a magenta color complex measured at 560 nm.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: 150 mmol/l acetate solution for pH 4.5 containing guanidine.

B. Reagent B: ascorbic acid.

C. Reagent C: ferrozine stabilized solution.

S. Standard: ferric ions solution (III) equivalent to 100 ug/dl.

Final concentrations

Acetate	150 mmol/l, pH 4.5
Ferrozine	0.2 mmol/l
Ascorbic acid	0.03 mol/l
Guanidine	4.0 mol/l

NON-PROVIDED REAGENTS

- Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.
- Distilled water.

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent C: ready to use.

Standard: ready to use

Working Reagent: transfer to the Reagent B vial the amount of Reagent A stated on the label. Date.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

All reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: are stable at room temperature (< 25°C) until the expiration date shown on the box.

Working Reagent: stable for 3 months from preparation date stored in refrigerator (2-10°C) or for 10 days at room temperature (18-25°C).

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Variations in Blank and/or Standard readings show occasional contamination (water, glassware, etc.).

An increase in Blank values will indicate contamination with iron.

SAMPLE

Serum or plasma

a) Collection: the patient must be fasting and extractions should be performed always at the same time (preferably in the morning) since physiological fluctuations are significant during the day.

b) Additives: use heparin as anticoagulant whenever plasma is used as sample.

c) Known interfering substances: hemoglobin interference is not observed up to 90 mg/dl, bilirubin up to 15 mg/dl and heparin up to 50 IU/ml. Interference is observed with 3,72 g/l triglycerides.

Lipemic samples may yield erroneous results.

Although light hemolysis does not interfere with this method, the International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) recommends the use of serum free from hemolysis.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: serum or heparinized plasma may be stored up to one week in refrigerator (2-10°C).

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer or photocolorimeter.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Spectrophotometric tubes or cuvettes.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 560 nm in spectrophotometer or 540-560 nm in photocolorimeter with green filter.
- Reaction temperature: room temperature
- Reaction time: 5 minutes
- Sample volume: 200 ul
- Final reaction volume: 1.4 ml

PROCEDURE

In three photocolorimeter tubes labeled B (Reagent Blank), S (Standard) and U (Unknown) place:

	B	S	U
Bidistilled water	200 ul	-	-
Standard	-	200 ul	-
Serum	-	-	200 ul
Working Reagent	1 ml	1 ml	1 ml

Mix. Read absorbance of U Tube (Serum Blank: SB) in spectrophotometer at 560/580 nm or in photocolorimeter with green filter (540/560 nm) setting the instrument to zero with water. Then add:

Reagent C	200 ul	200 ul	200 ul
------------------	--------	--------	--------

Mix at once. Reread each tube after 5 minutes, setting the instrument to zero with water.

STABILITY OF FINAL REACTION

Tubes must be read within 5 and 60 minutes after completing the procedure steps.

CALCULATIONS

Correct S and U readings, subtracting the corresponding Blanks:

S - B = corrected S

U - (B + SB) = corrected U

Fe (ug/dl) = corrected U x f

$$\text{where: } f = \frac{100 \text{ ug/dl}}{\text{corrected S}}$$

QUALITY CONTROL METHOD

Test two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known iron concentration for each determination.

THEORETICAL VALUES

Men: 65 to 175 ug/dl (11.6 - 31.3 umol/l)

Women: 50 to 170 ug/dl (9 - 30.4 umol/l)

REFERENCE VALUES

Among a group of 20 healthy women and 20 healthy men,

between 18 and 51 years of age, a range of 55-175 ug/dl* was observed, obtaining the following mean values:

Men: 114.6 ug/dl (20.5 umol/l)

Women: 103.3 ug/dl (18.5 umol/l)

* Reference values obtained from Wiener lab. records.

Each laboratory should establish its own references values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

Iron (ug/dl) x 0.179 = Iron (umol/l)

PROCEDURE LIMITATIONS

- Acceptable Blank values: oligo-elements determination requires prevention from possible water and reagent contamination. The Reagent Blank, tested according to the Instruction Insert, should not be higher than 0.150 O.D. Also the water contribution to the blank should be insignificant. Hence, the use of proven quality water is recommended (conductivity below 0.02 uOhms).

- Cleaning of the material: the labware used should be iron-free, so it should be submerged for 6 hours into 10-15% analytical grade hydrochloric acid, eliminating the acidity with numerous washes steps using iron-free water. Dry the material at a temperature not above 80°C in stainless steel or vinyl coated baskets. This material should be exclusively used for iron determination.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: when replicates of the same samples were assayed on the same day, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
146.5 ug/dl	± 1.93 ug/dl	1.32 %
324.6 ug/dl	± 1.76 ug/dl	0.54 %

Performing the same assay on different days, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
142.8 ug/dl	± 2.50 ug/dl	1.75 %
314.0 ug/dl	± 3.93 ug/dl	1.25 %

b) Recovery: a recovery between 90 and 103% was obtained by adding known amounts of Fe (II) to aliquots of the same serum.

c) Linearity: reaction is linear up to 1000 ug/dl.

d) Detection limit: 6.05 ug/dl.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use. For calibration, Wiener lab. **Calibrador A plus** should be used, according to the autoanalyzer requirements.

WIENER LAB. PROVIDES

- 5 x 20 ml (100 ml Reagent A) (Cat. N° 1492003).

REFERENCES

- Dixon, K. - Ann. Clin. Biochem. 10/5:127 (1973).

- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543 (1971).

- Zak, B.; Baginski, E.S.; Epstein, E. y Wiener, L.M. - Clin.

Toxicol. 4/4:621 (1971).

- Rojkin, M.L.; Olguin de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Albarraçin, A. - III Congreso Argentino de Bioquímica - Buenos Aires (1975).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AAC Press, 4th ed., 2001.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.



This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

	Authorized representative in the European Community
	"In vitro" diagnostic medical device
	Contains sufficient for <n> tests
	Use by
	Temperature limitation (store at)
	Do not freeze
	Biological risks
	Volume after reconstitution
	Contents
	Batch code
	Manufactured by:
	Harmful
	Corrosive / Caustic
	Irritant
	Consult instructions for use
	Calibrator
	Control
	Positive Control
	Negative Control
	Catalog number



Fer-color

AA

Bezpośrednia metoda kolorymetryczna do oznaczania żelaza w surowicy krwi lub osoczu bez odbiaćzania

Nr kat.: 1492003

WSTĘP

Żelazo rozmieszczone jest w organizmie w zróżnicowany sposób m. in. w hemoglobinie, jako żelazo tkankowe i w mioglobinie. Przenoszone jest przez białkowy nośnik zwany apotransferyną. Kompleks białka z żelazem jest znany jako transferyna.

Ferrytyna jest obecna w większości komórek i stanowi rezerwar żelaza dostępny dla tworzenia hemoglobiny i innych białek zawierających grupę hemową. Wchłanianie żelaza zachodzi głównie w dwunastnicy. Zarówno ferrytyna jak i transferyna są obecne w komórkach błony śluzowej jelit i razem biorą udział w regulacji wchłaniania. Główne zaburzenia metaboliczne są związane z niedoborem lub nadmiarem; jakkolwiek zmiany w poziomie żelaza obserwuje się w wielu innych zaburzeniach takich jak astma, choroby sercowo-naczyniowe, przewlekłe zapalenie wątroby, choroby nerek i infekcje.

Jednym z najczęstszych zaburzeń organicznych w praktyce klinicznej jest niedokrwistość z niedoboru żelaza. Zwykle występuje u dzieci, młodzieży i kobiet w ciąży, jak również u osób starszych. Wrzody żołądka lub dwunastnicy a także rak żołądka może również prowadzić do niedokrwistości z niedoboru żelaza. Z drugiej strony nadmiar żelaza występuje w takich zaburzeniach jak: hemosyderoza, hemochromatoza i anemia sideroblastyczna.

ZASADA DZIAŁANIA

Żelazo surowicy krwi tj. w postaci związanej z nośnikiem (transferyną), jest uwalniane pod wpływem buforu octanowego w pH 4,5 i w obecności czynnika redukującego (kwasu askorbinowego). Następnie reaguje z kolorowym odczynnikiem ferrozyną (pyridyl bis-phenyl triazine sulfonate) tworząc kompleks w kolorze karmazynowym. Pomiaru dokonujemy przy długości fali 560 nm.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: 150 mmol/l roztwór octanowy o pH 4,5 zawierający guanidynę.

B. Odczynnik B: kwas askorbinowy.

C. Odczynnik C: stabilizowany roztwór ferrozyny.

S. Próba wzorcowa*: roztwór jonów żelaza (III) równy 100 ug/dl.

Końcowe stężenia

Octan	150 mmol/l, pH 4,5
Ferrozyna	0,2 mmol/l
Kwas askorbinowy	0,03 mol/l
Guanidyna	4,0 mol/l

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Calibrador A plus Wiener lab.

- Woda destylowana.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynnik C: gotowy do użycia.

Próba wzorcowa: gotowa do użycia.

Odczynnik Roboczy: przelać do fiolki z odczynnikiem B oznaczoną na opakowaniu ilość odczynnika A i oznaczyć datą.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki do diagnostyki "in vitro".

Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Wszystkie odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: stabilne w temp. (< 25°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

Odczynnik Roboczy: trwałe przez 3 miesiące od daty przygotowania, przechowywać w lodówce (2-10°C) lub przez 10 dni w temp. pokojowej (18-25°C).

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Różnice w odczycie próbek ślepych lub wzorcowych świadczą o przypadkowym zanieczyszczeniu (woda, szkło itp.) Wzrost w pomiarach próby ślepej wskazuje na zanieczyszczenie żelazem.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze

a) Pobranie: pacjent musi być na czczo i pobranie musi być stale o tej samej porze najlepiej rano ze względu na znaczące, fizjologiczne zmiany poziomu w ciągu dnia.

b) Substancje dodatkowe: gdy używane jest osocze należy zawsze zastosować heparynę jako antykoagulant.

c) Znane interakcje: hemoglobina nie wpływa do 90 mg/dl, bilirubina do 15 mg/dl i heparyna 50 IU/ml. Zaobserwowano interakcję z trójglicerydami do 3,72 g/l. Materiał zawierający wysokie poziomy lipidów może dawać błędne wyniki. Mimo iż niewielki stopień hemolizy nie wpływa na metodę, International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) zaleca stosowanie surowicy wolnej od hemolizy.

Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i warunki przechowywania: surowica lub he

*Niedostarczane we wszystkich rozmiarach zestawów

864109024 / 00 p. 10/12

paryzowane osocze może być przechowywane do tygodnia w lodówce (2-10°C).

WYMAGANY MATERIAŁ I SPRZĘT (niedostarczany)

- Spektrofotometr, fotokolorometr, analizator automatyczny.
- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości.
- Probówki do spektrofotometru lub kuwety.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 560 nm w spektrofotometrze lub 540-560 nm w fotokolorymetrze z zielonym filtrem.
- Temperatura reakcji: temperatura pokojowa
- Czas reakcji: 5 minut
- Objętość materiału: 200 ul
- Końcowa objętość reakcji: 1,4 ml

PROCEDURA

W trzech probówkach do fotokolorymetru oznaczonych B (Odczynnik Ślepy), S (Próba Wzorcowa) i U (Próba Nieznana) umieścić:

	B	S	U
Woda podwójnie destylowana	200 ul	-	-
Próba wzorcowa	-	200 ul	-
Materiał badany	-	-	200 ul
Odczynnik Roboczy	1 ml	1 ml	1 ml

Wymieszać. Ustawić aparat na zero na wodzie. Odczytać absorbancję próbki U (Surowica Ślepa: SB) w spektrofotometrze przy długości fali 560/580 nm lub fotokolorymetrze z zielonym filtrem przy długości fali (540/560 nm). Następnie dodać:

Odczynnik C	200 ul	200 ul	200 ul
--------------------	--------	--------	--------

Wymieszać raz. Odczytać pomiar próbek po 5 minutach i wcześniejszym ustawieniu aparatu na zero na wodzie.

TRWAŁOŚĆ KOŃCOWEJ REAKCJI

Próbki muszą być odczytane w czasie 5-60 minut od zakończenia całej procedury wykonania badania.

OBLICZENIA

Dokonać korekty w odczytach S i U:

S - B = skorygowane S

U - (B + SB) = skorygowane U

Fe (ug/dl) = skorygowane U x f gdzie:

$$f = \frac{100 \text{ ug/dl}}{\text{Skorygowane S}}$$

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, należy przeprowadzić

analizę na dwóch poziomach (Standatrol S-E 2 niveles) ze znanym stężeniem żelaza.

TEORETYCZNY ZAKRES WARTOŚCI

Mężczyźni: 65 do 175 ug/dl (11,6 - 31,3 umol/l)

Kobiety: 50 do 170 ug/dl (9 - 30,4 umol/l)

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Na podstawie grupy 20 zdrowych kobiet i 20 zdrowych mężczyzn, w przedziale wiekowym 18-51 lat mających zakres wartości 55-175 ug/dl*, otrzymano następujące średnie wartości:

Mężczyźni: 114,6 ug/dl (20,5 umol/l)

Kobiety: 103,3 ug/dl (18,5 umol/l)

*Zakres wartości referencyjnych uzyskano z dokumentacji Wiener lab.

Zaleca się aby każde laboratorium ustaliło własne zakresy i wartości referencyjne.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Żelazo (ug/dl) x 0,179 = Żelazo (umol/l)

OGRANICZENIA PROCEDURY

- Dopuszczalne wartości Próby Ślepej: oznaczanie oligoelementów wymaga zapobiegania przed zanieczyszczeniem wody i odczynnika. Zgodnie z umieszczoną informacją na ulotce wartość Próby ślepej odczynnika nie może być wyższa niż 0,150 O.D. Kontrybucja wody do ślepej musi być nieznaczna. Stąd zaleca się zastosowanie wody o sprawdzonej jakości (o przewodnictwie poniżej 0.02 uOhms).
- Procedura czyszczenia sprzętu: używany sprzęt laboratoryjny powinien być wolny od żelaza, należy go zanurzyć na 6 godzin w 10-15% kwasem hydrochlorowym cz.d.a, a następnie wielokrotnie płukać wodą pozbawioną żelaza w celu wypłukania kwasowości. Wysuszyć sprzęt w temperaturze powyżej 80°C w nierdzewnej stali lub pokrytej winylem cieplarcie. Używać wyłącznie do oznaczeń żelaza.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: przy powtórzeniach badania tego samego materiału w tym samym dniu, uzyskano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
146,5 ug/dl	± 1,93 ug/dl	1,32 %
324,6 ug/dl	± 1,76 ug/dl	0,54 %

Przy wykonaniu tych samych analiz w różnych dniach, uzyskano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
142,8 ug/dl	± 2,50 ug/dl	1,75 %
314,0 ug/dl	± 3,93 ug/dl	1,25 %

b) Odzyskiwanie: otrzymano odzysk pomiędzy 90 a 103% po dodaniu znanych ilości żelaza Fe (II) do równych części tej samej surowicy.

c) Linijność: reakcja jest linijna do wartości 1000 ug/dl.

d) Granica wykrywalności: 6,05 ug/dl.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi urządzenia w celu programowania analizatorów automatycznych. Do kalibracji użyć Wiener lab's Calibrador A plus zgodnie z wymogami dla poszczególnych analizatorów automatycznych.

WIENER LAB. DOSTARCZA


- 5 x 20 ml (100 ml Odczynnik A) (Nr kat. 1492003).

ŹRÓDŁA


- Dixon, K. - Ann. Clin. Biochem. 10/5:127 (1973).
- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543 (1971).
- Zak, B.; Baginski, E.S.; Epstein, E. y Wiener, L.M. - Clin. Toxicol. 4/4:621 (1971).
- Rojkín, M.L.; Olguin de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Albarracín, A. - III Congreso Argentino de Bioquímica - Buenos Aires (1975).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej


 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed


 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość


 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa


 Substancja żrąca

 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

 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.
Cert. N°: 3193/99

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina