



UIBC/TIBC

AA

Método colorimétrico directo para la determinación de la capacidad latente de fijación de hierro (UIBC) en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

El hierro se transporta desde un órgano hacia otro formando un complejo con una proteína denominada transferrina. Dado que normalmente sólo un tercio de los sitios de unión están ocupados, la transferrina posee una considerable capacidad de unión al hierro. Esta se conoce como capacidad latente de fijación de hierro (UIBC).

La suma de hierro sérico y UIBC representa la capacidad total de fijación de hierro (TIBC).

Si bien las mediciones de hierro sérico son importantes desde el punto de vista clínico, cuando se combinan con valores de UIBC/TIBC permiten obtener un diagnóstico más completo de enfermedades como anemia y afecciones hepáticas.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Una cantidad conocida de iones de hierro se adiciona a la muestra a pH alcalino para saturar la transferrina y el exceso no unido se mide colorimétricamente. UIBC es igual a la diferencia entre la concentración de hierro adicionado y el exceso no unido. TIBC se puede calcular como la suma de hierro sérico y la capacidad latente de fijación de hierro (UIBC).

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: buffer Tris 500 mM, pH 8,7 conteniendo 50 ug/dl de hierro (II), tiourea 80 mM.

B. Reactivo B: solución de ferrozina 5 mM.

S. Standard: solución de iones hierro (II) equivalente a 500 ug/dl.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Agua desionizada.

- **Fer-color AA** o **Fer-color AA líquida**, para el cálculo de TIBC.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. El **Standard** es utilizado en algunas adaptaciones a analizadores automáticos.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Evitar la ingestión y el contacto con los ojos.

El Reactivo A contiene tiourea; estudios experimentales realizados con esta droga en animales han evidenciado un posible efecto carcinogénico.

Todo el material a utilizar debe estar libre de hierro por lo que debe sumergirse al menos 6 horas en solución de HCl 10% y luego enjuagar con abundante cantidad de agua libre de hierro. H302: Nocivo en caso de ingestión. P262: Evitar el contacto

con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

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 2-10°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

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.).

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado

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 bilirrubina conjugada hasta 20 mg/dl, bilirrubina no conjugada hasta 35 mg/dl y heparina hasta 50 UI/ml. Se recomienda el uso de muestras libres de hemólisis. Los triglicéridos no interfieren hasta 1200 mg/dl en la técnica automática y 300 mg/dl en la técnica manual.

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

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras pueden conservarse una semana en refrigerador (2-10°C). En caso de no procesarse en el momento, congelar para su conservación.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o analizador automático.

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.

- Tubos o cubetas espectrofotométricas.

- Baño a 37°C.
- Agua libre de hierro.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 560 nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 6 minutos
- Volumen de muestra: 100 ul
- Volumen total de reacción: 1,3 ml

PROCEDIMIENTO

En dos tubos o cubetas espectrofotométricas marcados B (Blanco) y D (Desconocido) colocar:

	B	D
Agua bidestilada	100 ul	-
Muestra	-	100 ul
Reactivo A	1 ml	1 ml

Mezclar, incubar 3 minutos a 37°C. Leer la absorbancia de B (BA) y de D (BD) en espectrofotómetro a 560 nm llevando a cero el aparato con agua. Luego agregar:

Reactivo B	200 ul	200 ul
------------	--------	--------

Mezclar inmediatamente, incubar 3 minutos a 37°C. Volver a leer cada uno en las condiciones especificadas arriba.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

Los tubos deben ser leídos entre 3 y 30 minutos luego de completados los pasos del procedimiento.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

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

B - BA = B corregida

D - BD = D corregida

$$\text{UIBC (ug/dl)} = 500 - (500 \times \frac{\text{D corregida}}{\text{B corregida}})$$

Ejemplo:

BA = 0,000 D.O.; B = 0,170 D.O.; B corregida = 0,170 D.O.

BD = 0,020 D.O.; D = 0,110 D.O.; D corregida = 0,090 D.O.

$$\text{UIBC (ug/dl)} = 500 - (500 \times \frac{0,09}{0,17}) = 235 \text{ ug/dl}$$

Cálculos adicionales:

TIBC (ug/dl) = UIBC (ug/dl) + Hierro sérico (ug/dl)

$$\% \text{ Saturación de Transferrina} = \frac{100 \times \text{Hierro sérico}}{\text{TIBC}}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standardrol S-E 2 niveles**) con valores conocidos de UIBC/TIBC con cada determinación.

VALORES TEORICOS

Intervalos en adultos:

UIBC:

Hombres: 140-330 ug/dl

Mujeres: 140-346 ug/dl

TIBC: 250-425 ug/dl

% Saturación de Transferrina:

Hombres: 20-50%

Mujeres: 15-50%

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSIONES DE UNIDADES AL SISTEMA SI

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

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
- Limpieza del material: todo el material de laboratorio empleado debe estar libre de hierro, para ello debe ser sumergido durante al menos 6 horas en HCl 10%, eliminando la acidez mediante numerosos lavados con agua libre de hierro. Todo el material debe ser empleado exclusivamente para la determinación de UIBC.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando de acuerdo al documento EP15-A del CLSI (ex-NCCLS), se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
132,46 ug/dl	± 1,07 ug/dl	0,81 %
184,83 ug/dl	± 1,32 ug/dl	0,72 %
416,35 ug/dl	± 5,04 ug/dl	1,21 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
132,46 ug/dl	± 3,73 ug/dl	2,82 %
184,83 ug/dl	± 6,70 ug/dl	3,62 %
416,35 ug/dl	± 7,63 ug/dl	1,83 %

b) Límite de detección: la mínima concentración de UIBC detectable empleando **UIBC/TIBC AA líquida** es 0,2 ug/dl.

c) Límite de cuantificación: la mínima concentración de UIBC detectable empleando **UIBC/TIBC AA líquida** con precisión y exactitud aceptables es 13 ug/dl.

d) Linealidad: la reacción es lineal hasta 500 ug/dl en autoanalizadores y hasta 450 ug/dl en técnica manual.

Para muestras con concentración de UIBC superior a 500 ug/dl en autoanalizadores o 450 ug/dl en técnica manual, diluir al medio manualmente con solución fisiológica y ensayar nuevamente. Multiplicar el resultado por el factor de dilución.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
- 1 x 5 ml Standard
(Cód. 1492361)

72 ml: - 3 x 20 ml Reactivo A
- 3 x 4 ml Reactivo B
- 1 x 5 ml Standard
(Cód. 1009286)

72 ml: - 3 x 20 ml Reactivo A
- 3 x 4 ml Reactivo B
- 1 x 5 ml Standard
(Cód. 1009340)

72 ml: - 3 x 20 ml Reactivo A
- 3 x 4 ml Reactivo B
- 1 x 5 ml Standard
(Cód. 1009633)

72 ml: - 3 x 20 ml Reactivo A
- 3 x 4 ml Reactivo B
- 1 x 5 ml Standard
(Cód. 1009941)*

BIBLIOGRAFIA

- Goodwin, J. et al. - Clin. Chem. 12/2:47-57, 1966.
- Levy, A.L. et al. - Clin. Chem. 7/3:241-248, 1961.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry", 5ª edición, 2001.
- Gambino, R. et al. - Clin. Chem. 43/12:2408-2412, 1997.
- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W.; "Clinical Chemistry, Principles and Techniques", Harper & Row, 2ª edición, 1974.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.
- Tietz, N.W.; Rinker, A.D.; Morrison, S.R. - Clin. Chem 40/4:546-551, 1994.
- Preden-Kerekovic, V. et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 36/5:327-337, 1998.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NC-CLS), Protocol EP15-A, 2001; EP6-A, 2003; EP17-A, 2004.
- NTP, National Toxicology Program, Department of Health and Human Services, Report of Carcinogens, 2005.

SIMBOLOS

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



Método colorimétrico direto para a determinação da capacidade latente de ligação de ferro (UIBC) em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

O ferro é transportado de um órgão para outro formando um complexo com uma proteína denominada transferrina. Desde que normalmente só um terço dos sítios da união estão ocupados, a transferrina possui uma considerável capacidade de ligação ao ferro. Esta capacidade conhece-se como capacidade latente de ligação de ferro (UIBC).

A soma de ferro e UIBC representa a capacidade total de ligação de ferro (TIBC).

Embora as medições de ferro sérico são importantes desde o ponto de vista clínico, quando combinadas com valores de UIBC/TIBC permitem obter um diagnóstico mais completo das doenças tais como anemia e afecções hepáticas.

FUNDAMENTO DO MÉTODO

Uma quantidade conhecida de íons é acrescentada à amostra a pH alcalino para saturar a transferrina e o excesso não ligado é medido pelo método colorimétrico. A UIBC é igual à diferença entre a concentração de ferro adicionado e o excesso não ligado. A TIBC pode-se calcular como a soma de ferro sérico e a capacidade latente de ligação de ferro (UIBC).

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: tampão Tris 500 mM, pH 8,7 contendo 50 ug/dl de ferro (II), tiouréia 80 mM.

B. Reagente B: solução de ferrozina 5 mM.

S. Padrão: solução de íons ferro (II) equivalente a 500 ug/dl.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Água destilada.

- **Fer-color AA** ou **Fer-color AA líquida**, para o cálculo de TIBC.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. O **Padrão** é utilizado em algumas adaptações a analisadores automáticos.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Evitar a ingestão e o contato com os olhos.

O Reagente A contém tiouréia; estudos experimentais realizados com esta droga em animais demonstraram um possível efeito carcinógeno.

Todo o material a ser utilizado deve estar livre de ferro. Submergir pelo menos 6 horas em solução de HCl 10% e após enxaguar com abundante quantidade de água livre de ferro. H302: Nocivo por ingestão. P262: Não pode entrar em contacto com os olhos, a pele ou a roupa. P305 + P351

+ P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. P302 + P352: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P280: Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial 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 refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Variações nas leituras de Brancos de Reagentes e/ou Padrão são indicio de contaminações ocasionais (água, material de vidro, etc.).

AMOSTRA

Soro ou plasma com heparina

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 por bilirrubina conjugada até 20 mg/dl, bilirrubina não conjugada até 35 mg/dl nem heparina até 50 UI/ml. Recomenda-se o uso de amostras livres de hemólise. Os triglicerídeos não interferem até 1200 mg/dl utilizando a técnica automática, nem até 300 mg/dl com técnica manual. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: as amostras podem-se conservar uma semana sob refrigeração (2-10°C). Caso de não se processar na hora, congelar para sua conservação.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou analisador automático.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Tubos ou cubetas espectrofotométricas.

- Banho-maria a 37°C.
- Água livre de ferro.
- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 560 nm
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de reação: 6 minutos
- Volume de amostra: 100 ul
- Volume total de reação: 1,3 ml

PROCEDIMENTO

Em dois tubos ou cubetas espectrofotométricas marcados B (Branco) e D (Desconhecido), colocar:

	B	D
Água bidestilada	100 ul	-
Amostra	-	100 ul
Reagente A	1 ml	1 ml

Misturar, incubar 3 minutos a 37°C. Ler a absorbância de B (BA) e de D (BD) em espectrofotômetro a 560 nm levando a zero o aparelho com água. Após acrescentar:

	B	D
Reagente B	200 ul	200 ul

Misturar imediatamente, incubar 3 minutos a 37°C. Ler novamente cada tubo, nas condições especificadas acima.

ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

Os tubos devem ser lidos entre 3 e 30 minutos após de completar os passos de procedimento.

CALCULO DOS RESULTADOS

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

B - BA = B corrigida

D - BD = D corrigida

$$\text{UIBC (ug/dl)} = 500 - \left(500 \times \frac{\text{D corrigida}}{\text{B corrigida}} \right)$$

Exemplo:

BA = 0,000 D.O.; B = 0,170 D.O.; B corrigida = 0,170 D.O.

BD = 0,020 D.O.; D = 0,110 D.O.; D corrigida = 0,090 D.O.

$$\text{UIBC (ug/dl)} = 500 - \left(500 \times \frac{0,09}{0,17} \right) = 235 \text{ ug/dl}$$

Cálculos adicionais:

TIBC (ug/dl) = UIBC (ug/dl) + Ferro sérico (ug/dl)

$$\% \text{ Saturação da Transferrina} = \frac{100 \times \text{Ferro sérico}}{\text{TIBC}}$$

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com valores conhecidos de UIBC/TIBC com cada determinação.

VALORES TEÓRICOS

Intervalos em adultos:

UIBC:

Homens: 140-330 ug/dl

Mulheres: 140-346 ug/dl

TIBC: 250-425 ug/dl

% Saturação da Transferrina:

Homens: 20-50%

Mulheres: 15-50%

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

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

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

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

- Limpeza do material: todo o material de laboratório utilizado deve estar livre de ferro, submergindo-o durante 6 horas em HCl p.a. 10%, eliminando a acidez com vários lavados com água livre de ferro.

Todo o material deve ser utilizado só para a determinação de UIBC.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando segundo o documento EP15-A do CLSI (ex-NCCLS), obteve-se o seguinte:

Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
132,46 ug/dl	± 1,07 ug/dl	0,81 %
184,83 ug/dl	± 1,32 ug/dl	0,72 %
416,35 ug/dl	± 5,04 ug/dl	1,21 %

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
132,46 ug/dl	± 3,73 ug/dl	2,82 %
184,83 ug/dl	± 6,70 ug/dl	3,62 %
416,35 ug/dl	± 7,63 ug/dl	1,83 %

b) Limite de detecção: a mínima concentração de UIBC detectável utilizando **UIBC/TIBC AA líquida** é 0,2 ug/dl.

c) Limite de quantificação: a mínima concentração de UIBC detectável utilizando **UIBC/TIBC AA líquida** com precisão e exatidão aceitáveis é 13 ug/dl.

d) Linearidade: a reação é linear até 500 ug/dl em analisadores automáticos e até 450 ug/dl utilizando técnica manual.

Para amostras com concentração de UIBC superior a 500 ug/dl em analisador automático ou 450 ug/dl com técnica manual, diluir 1/2 com solução fisiológica e ensaiar novamente. Multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

APRESENTAÇÃO

60 ml: - 1 x 50 ml Reagente A
- 1 x 10 ml Reagente B
- 1 x 5 ml Padrão

(Cód. 1492361)

72 ml: - 3 x 20 ml Reagente A
- 3 x 4 ml Reagente B
- 1 x 5 ml Padrão

(Cód. 1009286)

72 ml: - 3 x 20 ml Reagente A
- 3 x 4 ml Reagente B
- 1 x 5 ml Padrão

(Cód. 1009340)

72 ml: - 3 x 20 ml Reagente A
- 3 x 4 ml Reagente B
- 1 x 5 ml Padrão

(Cód. 1009633)

72 ml: - 3 x 20 ml Reagente A
- 3 x 4 ml Reagente B
- 1 x 5 ml Padrão

(Cód. 1009941)*

REFERÊNCIAS

- Goodwin, J. et al. - Clin. Chem. 12/2:47-57, 1966.
- Levy, A.L. et al. - Clin. Chem. 7/3:241-248, 1961.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry", 5ª edição, 2001.
- Gambino, R. et al. - Clin. Chem. 43/12:2408-2412, 1997.
- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W.; "Clinical Chemistry, Principles and Techniques", Harper & Row, 2ª edição, 1974.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.
- Tietz, N.W.; Rinker, A.D.; Morrison, S.R. - Clin. Chem 40/4:546-551, 1994.
- Preden-Kerekovic, V. et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 36/5:327-337, 1998.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NC-CLS), Protocol EP15-A, 2001; EP6-A, 2003; EP17-A, 2004.
- NTP, National Toxicology Program, Department of Health and Human Services, Report of Carcinogens, 2005.

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

UIBC/TIBC

AA

Direct colorimetric method for Unsaturated Iron-Binding Capacity (UIBC) determination in serum or plasma



SUMMARY

Transport of iron from one organ to another is accomplished by a plasma transport protein called transferrin.

Since normally only about one-third of the iron-binding sites are occupied, transferrin has a considerable iron-binding capacity. The additional amount of iron that can be bound is the Unsaturated Iron Binding Capacity (UIBC). UIBC measurements can be used in conjunction with serum iron concentration to obtain the Total Iron-Binding Capacity (TIBC).

The measurement of UIBC in combination with serum iron is an useful diagnostic tool to reach a complete diagnosis of diseases such as anemia and hepatic conditions.

PRINCIPLE

UIBC is determined directly by saturating the transferrin at an alkaline pH with a known, but excess amount of iron. Remaining unbound iron is colorimetrically measured. The UIBC is determined by subtracting the amount of the unbound excess of iron from that of the iron added.

The sum of the serum iron and UIBC represents the total iron binding capacity (TIBC).

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: 500 mM Tris buffer, pH 8.7 containing 50 ug/dl iron (II), 80 mM thiourea.

B. Reagent B: 5 mM ferrozine solution.

S. Standard: ferrous ions solution (II) equivalent to 500 ug/dl.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Deionized water.

- **Fer-color AA** or **Fer-color AA líquida**, for TIBC calculation.

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use. The Standard is used in some of autoanalyzer's applications.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Avoid ingestion and direct contact with eyes.

Reagent A contains thiourea. Research studies performed in animals using this drug have shown a possible carcinogenic effect. The materials used should be iron-free, submerge it for 6 hours into 10% HCl and then rinse with plenty of iron-free water. H302: Harmful if swallowed. P262: Do not get in eyes, on skin, or on clothing. P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. Use the reagents following the usual work precautions at the clinical laboratory. All reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: are stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

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

SAMPLE

Serum or heparinized plasma

a) Collection: the patient must be fasting and withdrawals 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: no interference has been observed with conjugated bilirubin up to 20 mg/dl, non-conjugated bilirubin up to 35 mg/dl and heparin up to 50 IU/ml. The use of samples free from hemolysis is recommended. No interference has been observed by triglycerides up to 1200 mg/dl using the automated technique and 300 mg/dl using the manual technique.

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

d) Stability and storage instructions: samples may be stored up to one week at 2-10°C. In case samples are not immediately processed they should be stored frozen.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer or autoanalyzer.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes.
- Spectrophotometric tubes or cuvettes.
- Water bath at 37°C.
- Iron-free water.
- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 560 nm
- Reaction temperature: 37°C

- Reaction time: 6 minutes
- Sample volume: 100 ul
- Total reaction volume: 1.3 ml

PROCEDURE

In two spectrophotometric tubes or cuvettes labeled B (Blank) and U (Unknown) place:

	B	U
Bidistilled water	100 ul	-
Sample	-	100 ul
Reagent A	1 ml	1 ml

Mix and incubate for 3 minutes at 37°C. Measure absorbance of B (BA) and U (BU) in spectrophotometer at 560 nm setting the instrument to zero with water. Then add:

Reagent B	200 ul	200 ul
------------------	--------	--------

Mix at once and incubate for 3 minutes at 37°C. Remeasured each tube or cuvette using the above mentioned conditions.

STABILITY OF FINAL REACTION

Measure absorbance within 3 and 30 minutes after completing the procedure steps.

CALCULATIONS

Correct B and U readings, subtracting the corresponding Blanks:

B - BA = corrected B

U - BU = corrected U

$$\text{UIBC (ug/dl)} = 500 - \left(500 \times \frac{\text{corrected U}}{\text{corrected B}} \right)$$

Example:

BA = 0.000 O.D.; B = 0.170 O.D.; corrected B = 0.170 O.D.

BU = 0.020 O.D.; U = 0.110 O.D.; corrected U = 0.090 O.D.

$$\text{UIBC (ug/dl)} = 500 - \left(500 \times \frac{0.09}{0.17} \right) = 235 \text{ ug/dl}$$

Additional calculations:

TIBC (ug/dl) = UIBC (ug/dl) + serum iron (ug/dl)

$$\text{Transferrin saturation \%} = \frac{100 \times \text{serum iron}}{\text{TIBC}}$$

QUALITY CONTROL METHOD

Test 2 levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known UIBC/TIBC concentrations for each determination.

THEORETICAL VALUES

Adult intervals:

UIBC:

Men: 140-330 ug/dl

Women: 140-346 ug/dl

TIBC: 250-425 ug/dl

Transferrin saturation %:

Men: 20-50%

Women: 15%-50%

Each laboratory should establish its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

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

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

PROCEDURE LIMITATIONS

- See Known interfering substances under SAMPLE.
- Material cleaning process: the materials used should be iron-free, submerge it for 6 hours into 10% HCl, eliminating the acidity with numerous washing steps using iron-free water. This material should be exclusively used for iron determination.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: using CLSI (former NCCLS) EP15-A document as guideline, the following results were obtained:

Intra-assay precision (n = 20)

Level	S.D.	C.V.
132.46 ug/dl	± 1.07 ug/dl	0.81 %
184.83 ug/dl	± 1.32 ug/dl	0.72 %
416.35 ug/dl	± 5.04 ug/dl	1.21 %

Total precision (n = 20)

Level	S.D.	C.V.
132.46 ug/dl	± 3.73 ug/dl	2.82 %
184.83 ug/dl	± 6.70 ug/dl	3.62 %
416.35 ug/dl	± 7.63 ug/dl	1.83 %

b) Detection limit: the minimum detectable UIBC concentration using **UIBC/TIBC AA líquida** is 0.2 ug/dl.

c) Quantification limit: the minimum detectable UIBC concentration using **UIBC/TIBC AA líquida** with acceptable accuracy and precision is 13 ug/dl.

d) Linearity: reaction is linear up to 500 ug/dl in autoanalyzers and up to 450 ug/dl using the manual technique. To obtain UIBC concentration samples over 500 ug/dl in autoanalyzers or 450 ug/dl using the manual technique, half dilute manually with saline solution and retest. Multiply the obtained result by the dilution factor.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

WIENER LAB. PROVIDES

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

- 1 x 5 ml Standard

(Cat. Nº 1492361)

72 ml: - 3 x 20 ml Reagent A

- 3 x 4 ml Reagent B

- 1 x 5 ml Standard

(Cat. Nº 1009286)

72 ml: - 3 x 20 ml Reagent A
- 3 x 4 ml Reagent B
- 1 x 5 ml Standard
(Cat. Nº 1009340)

72 ml: - 3 x 20 ml Reagent A
- 3 x 4 ml Reagent B
- 1 x 5 ml Standard
(Cat. Nº 1009633)

72 ml: - 3 x 20 ml Reagent A
- 3 x 4 ml Reagent B
- 1 x 5 ml Standard
(Cat. Nº 1009941)*

REFERENCES

- Goodwin, J. et al. - Clin. Chem. 12/2:47-57, 1966.
- Levy, A.L. et al. - Clin. Chem. 7/3:241-248, 1961.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry", 5ª edición, 2001.
- Gambino, R. et al. - Clin. Chem. 43/12:2408-2412, 1997.
- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W.; "Clinical Chemistry, Principles and Techniques", Harper & Row, 2ª edición, 1974.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W.; Rinker, A.D.; Morrison, S.R. - Clin. Chem 40/4:546-551, 1994.
- Preden-Kerekovic, V. et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 36/5:327-337, 1998.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NC-CLS), Protocol EP15-A, 2001; EP6-A, 2003; EP17-A, 2004.
- NTP, National Toxicology Program, Department of Health and Human Services, Report of Carcinogens, 2005.

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



UIBC/TIBC

AA

Nr kat. 1492361 Nr kat. 1009633
 Nr kat. 1009286 Nr kat. 1009941
 Nr kat. 1009340

Bezpośrednia metoda kolorymetryczna do oznaczania utajonej zdolności wiązania żelaza (Unsaturated Iron-Binding Capacity, UIBC) w surowicy krwi lub osoczu

WSTĘP

Żelazo jest transportowane pomiędzy poszczególnymi narządami tworząc kompleks z białkiem zwanym transferyną. Zdolność transferyny do wiązania żelaza jest znacząca, ponieważ zwykle wykorzystana jest jedna trzecia miejsc wiązania żelaza. To zjawisko nazywa się nienasyconą lub ukrytą zdolnością do wiązania żelaza (Unsaturated (latent) Iron-Binding Capacity, UIBC). Pomiar UIBC oraz poziom żelaza w surowicy krwi pozwala otrzymać całkowitą zdolności do wiązania żelaza (Total Iron-Binding Capacity, TIBC). Pomimo, iż oznaczenie poziomu żelaza w surowicy krwi jest istotne klinicznie, w połączeniu z wartościami UIBC/TIBC daje pełne możliwości diagnostyczne chorób takich jak anemia i choroby wątroby.

ZASADA DZIAŁANIA

Należy dodać znaną ilość jonów żelazawych do materiału badanego w zasadowym pH celem wysycenia transferyny. Następnie dokonuje się pomiaru kolorymetrycznego nadmiaru niezwiązanych jonów. UIBC jest równa różnicy pomiędzy dodanym stężeniem żelaza oraz wykrytym nadmiarem niezwiązanych jonów żelaza. TIBC to suma poziomu żelaza w surowicy i utajonej zdolności do wiązania żelaza (UIBC).

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: 500 mM Bufor Tris, pH 8,7 zawierający 50 ug/dl żelaza (II), 80 mM tiomocznika.
B. Odczynnik B: 5 mM roztworu ferozyny.
S. Próba wzorcowa: roztwór jonów żelazawych (II) równa stężeniu 500 ug/dl.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Woda dejonizowana.
 - **Fer-color AA** lub **Fer-color AA likwida**, do obliczenia TIBC.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia. Próba wzorcowa jest używana w niektórych aplikacjach analizatorów automatycznych.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro". Odczynnik A zawiera tiomocznik. Badania przeprowadzone na zwierzętach wykazały działanie rakotwórcze. H302: Działa szkodliwie po połknięciu. P262: Chronić przed kontaktem ze skórą, oczami i odzieżą. P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli

są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. P302 + P352: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

Stosowany sprzęt i materiały powinny być wolne od żelaza, należy je zanurzyć na 6 godzin w 10% HCl a następnie obficie spłukać wodą wolną od żelaza. Odczynniki stosować zgodnie z zaleceniami dla laboratoriów klinicznych. Wszystkie odczynniki i materiał badany powinny być odrzucane zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Wszelkie zmiany w odczycie próby ślepej odczynnika i/lub próby wzorcowej wskazują na zanieczyszczenia (wody, szkła laboratoryjnego, itp).

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze heparynizowane

- a) Pobranie:** pacjent powinien być na czczo a pobranie należy wykonać o tej samej porze (najlepiej rano) ze względu na znaczącą fizjologiczną zmienność dobową wartości.
b) Substancje dodatkowe: zastosować heparynę za każdym razem gdy pobierane jest osocze.
c) Znane interakcje: nie wykazano żadnych interakcji z bilirubiną związaną do 20 mg/dl, bilirubiną niezwiązaną do 35 mg/dl i heparyną do 50 IU/ml. Zaleca się zastosowanie materiału wolnego od hemolizy. Brak interakcji z trójglicerydami do 1200 mg/dl przy zastosowaniu metod automatycznych oraz do 300 mg/dl w metodzie manualnej. Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.
d) Trwałość i instrukcja przechowywania: Materiał badany może być przechowywany do tygodnia w temp. 2-10°C. Jeżeli nie ma możliwości wykonania analizy materiał należy przechowywać zamrożony.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr lub analizator automatyczny.
- Mikropipety i pipety do pomiaru określonej objętości.
- Kuwety lub probówki spektrofotometryczne.
- Łaźnia wodna o temp. 37°C.
- Woda wolna od żelaza.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 560 nm
- Temperatura reakcji: 37°C
- Czas reakcji: 6 minut
- Objętość materiału badanego: 100 ul
- Całkowita objętość reakcji: 1,3 ml

PROCEDURA

W dwóch probówkach lub kuwetach spektrofotometrycznych oznaczonych B (Blank - Próba ślepa) oraz U (Unknown - Nieznany materiał badany) umieścić:

	B	U
Woda podwójnie destylowana	100 ul	-
Materiał badany	-	100 ul
Odczynnik A	1 ml	1 ml

Wymieszać i inkubować przez 3 minuty w temp. 37°C. Odczytać absorbancję dla B (BA) oraz U (BU) w spektrofotometrze przy 560 nm, ustawiając aparat na zero na wodzie. Następnie dodać:

Odczynnik B	200 ul	200 ul
--------------------	--------	--------

Wymieszać od razu i inkubować przez 3 minuty w 37°C. Ponownie dokonać pomiaru próbek lub kuwet w/w warunkach.

TRWAŁOŚĆ REAKCJI KOŃCOWEJ

Probówki muszą zostać odczytane w zakresie 3-30 minut po zakończeniu kolejnych etapów procedury.

OBLICZENIA

Skorygować odczyty B oraz U, odejmując odpowiednie próby ślepe:

B - BA = skorygowane B

U - BU = skorygowane U

$$\text{UIBC (ug/dl)} = 500 - \left(500 \times \frac{\text{skorygowane U}}{\text{skorygowane B}} \right)$$

Przykład:

BA = 0,000 O.D.; B = 0,170 O.D.; skorygowane B = 0,170 O.D.

BU = 0,020 O.D.; U = 0,110 O.D.; skorygowane U = 0,090 O.D.

$$\text{UIBC (ug/dl)} = 500 - \left(500 \times \frac{0,09}{0,17} \right) = 235 \text{ ug/dl}$$

Dodatkowe obliczenia:

TIBC (ug/dl) = UIBC (ug/dl) + żelazo w surowicy (ug/dl)

$$\text{wysycenie transferyny \%} = \frac{100 \times \text{żelazo w surowicy}}{\text{TIBC}}$$

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Badanie przeprowadzono na 2 poziomach materiału kontrolnego (**Standatrol S-E 2 niveles**) ze znanym poziomem stężenia UIBC/TIBC dla każdego oznaczenia.

WARTOŚCI TEORETYCZNE

Przedziały dla dorosłych:

UIBC:

Mężczyźni: 140-330 ug/dl

Kobiety: 140-346 ug/dl

TIBC: 250-425 ug/dl

Wysycenie transferyny %:

Mężczyźni: 20-50%

Kobiety: 15%-50%

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

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

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

OGRANICZENIA PROCEDURY

- Zobacz znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY.
- Procedura mycia sprzętu: sprzęt powinien być wolny od żelaza, zanurzyć sprzęt na 6 godzin w kwasie solnym 10% a następnie celem usunięcia kwasu wielokrotnie płukać wodą wolną od jonów żelaza.
- Sprzęt powinien być używany wyłącznie do oznaczania żelaza.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: badania precyzji zostały wykonane zgodnie z wytycznymi zawartymi w dokumencie EP15-A CLSI (dawniej NCCLS), otrzymano następujące wyniki:

Precyzja w trakcie badania (n = 20)

Poziom	S.D.	C.V.
132,46 ug/dl	± 1,07 ug/dl	0,81 %
184,83 ug/dl	± 1,32 ug/dl	0,72 %
416,35 ug/dl	± 5,04 ug/dl	1,21 %

Precyzja całkowita (n = 20)

Poziom	S.D.	C.V.
132,46 ug/dl	± 3,73 ug/dl	2,82 %
184,83 ug/dl	± 6,70 ug/dl	3,62 %
416,35 ug/dl	± 7,63 ug/dl	1,83 %

b) Granica wykrywalności: najmniejsze wykrywalne stężenie UIBC przy zastosowaniu UIBC/TIBC AA líquida wynosi 0,2 ug/dl.

c) Granica ilościowa: najmniejsze wykrywalne stężenie UIBC przy zastosowaniu UIBC/TIBC AA líquida przy zachowaniu akceptowalnej dokładności i precyzji wynosi 13 ug/dl.

d) Linijność: reakcja jest linijna do 500 ug/dl w analizatorach automatycznych i do 450 ug/dl przy zastosowaniu metody manualnej. Celem otrzymania stężeń UIBC powyżej

500 ug/dl w analizatorach automatycznych lub 450 ug/dl w metodzie manualnej należy rozcieńczyć połowę materiału badanego solą fizjologiczną i powtórzyć oznaczenie. Pomnożyć otrzymane wyniki przez współczynnik wykonanego rozcieńczenia.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania zapoznać się z instrukcją obsługi używanego analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA

60 ml: - 1 x 50 ml Odczynnik A
- 1 x 10 ml Odczynnik B
- 1 x 5 ml Próba wzorcowa

(Nr kat. 1492361)

72 ml: - 3 x 20 ml Odczynnik A
- 3 x 4 ml Odczynnik B
- 1 x 5 ml Próba wzorcowa

(Nr kat. 1009286)

72 ml: - 3 x 20 ml Odczynnik A
- 3 x 4 ml Odczynnik B
- 1 x 5 ml Próba wzorcowa

(Nr kat. 1009340)

72 ml: - 3 x 20 ml Odczynnik A
- 3 x 4 ml Odczynnik B
- 1 x 5 ml Próba wzorcowa

(Nr kat. 1009633)

72 ml: - 3 x 20 ml Odczynnik A
- 3 x 4 ml Odczynnik B
- 1 x 5 ml Próba wzorcowa

(Nr kat. 1009941)

ŹRÓDŁA

- Goodwin, J. et al. - Clin. Chem. 12/2:47-57, 1966.
- Levy, A.L. et al. - Clin. Chem. 7/3:241-248, 1961.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry", 5ª edición, 2001.
- Gambino, R. et al. - Clin. Chem. 43/12:2408-2412, 1997.
- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W.; "Clinical Chemistry, Principles and Techniques", Harper & Row, 2ª edición, 1974.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.
- Tietz, N.W.; Rinker, A.D.; Morrison, S.R. - Clin. Chem 40/4:546-551, 1994.
- Preden-Kerekovic, V. et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 36/5:327-337, 1998.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NC-CLS), Protocol EP15-A, 2001; EP6-A, 2003; EP17-A, 2004.
- NTP, National Toxicology Program, Department of Health and Human Services, Report of Carcinogens, 2005.

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.
PM-1102-28



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina