

Pág. 1: Método colorimétrico directo para la determinación de hierro en suero y/o plasma empleando ferene

Pág. 4: Evaluación del Wiener lab. Counter 19 - Parte II

Boletín del Servicio Bibliográfico de Wiener Laboratorios S.A.I.C.

<http://www.wiener-lab.com.ar>

Año XLII - Setiembre 2008

Director: Gustavo A. Capriotti - Redactor: Cristina M. Crepaldo - Editor Responsable: Wiener Laboratorios S.A.I.C. - 2000 - Rosario - Argentina

METODO COLORIMETRICO DIRECTO PARA LA DETERMINACION DE HIERRO EN SUERO Y/O PLASMA EMPLEANDO FERENE

Yovaldi, P.; Capriotti, G.

Centro de Investigación y Biotecnología, Wiener lab., Rosario, Argentina.

pyovaldi@wiener-lab.com.ar

Introducción y objetivos

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 unión de hierro en una proteína llamada transferrina.

La ferritina se encuentra en casi todas las células del cuerpo, constituyendo una reserva de hierro disponible para la formación de la hemoglobina y otras proteínas que contienen el grupo hemo. Tanto ferritina como 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 por enfermedades cardiovasculares y renales, hepatitis crónica e infecciones.

La anemia por pérdida de hierro representa uno de los trastornos orgánicos

más frecuentes, especialmente en niños, mujeres jóvenes y ancianos. Por el contrario, el exceso de hierro se asocia con otros desórdenes, como hemosiderosis, hemocromatosis y anemia sideroblástica. Las técnicas fotométricas para la determinación de hierro en suero se basan en la formación de un complejo con un cromógeno, entre los cuales ferrozina y batofenantrolina han sido ampliamente usados.

El presente método emplea ferene, un agente quelante adicional, con el objetivo de aumentar la sensibilidad del ensayo colorimétrico. Este compuesto presenta una elevada absorptividad molar, es más sensible que ferrozina y facilita la detección de hierro.

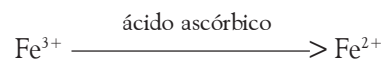
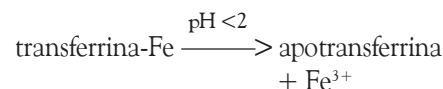
Fundamentos del método

El hierro se libera del complejo de transferrina en medio ácido y se reduce a Fe (II) con ácido ascórbico. Seguidamente reacciona con el reactivo de color, ferene, dando un complejo de color azul que

El presente estudio tiene como objetivo la evaluación de un método colorimétrico para la determinación de hierro en suero o plasma. Las técnicas fotométricas para la determinación de hierro en suero se basan en la formación de un complejo con un cromógeno. El presente método emplea ferene, un agente quelante, con el objetivo de aumentar la sensibilidad del ensayo. El kit en estudio mostró muy buena sensibilidad, exactitud y robustez, siendo fácilmente adaptable a analizadores automáticos.

se mide a 600 nm. La absorbancia obtenida es directamente proporcional a la concentración de hierro. Este nuevo kit está basado en el método colorimétrico directo Ferene para cuantificar hierro sin desproteínización.

Principio



Resultados

El kit (**Fer-color AA líquida**, Wiener lab.) mostró muy buena performance en todos los equipos en los que fue ensayado. Los estudios de validación se llevaron a cabo en forma manual y en analizadores automáticos. Se citan a continuación los resultados más relevantes.

Exactitud

Fer-color AA líquida posee una importante capacidad para medir bajas concentraciones de hierro con exactitud. Se midieron concentraciones de analito en sueros controles comerciales. Todos los valores se encontraron dentro del rango teórico y muy próximos a la media declarada. En la tabla I se presentan los resultados obtenidos en autoanализador Konelab 60i.

cionales a la concentración de analito. Los datos fueron analizados estadísticamente por regresión lineal simple. Se observó que Fer-color AA líquida es lineal de 4 a 1500 ug/dl de hierro en analizador automático y hasta 1000 mg/dl cuando se trabaja en técnica manual (gráfico 1).

Comparación de métodos

Se realizaron determinaciones de hierro

Interferencias

Se estudió el efecto que la presencia de distintas sustancias interferentes podía tener sobre los resultados del método analítico.

Se evaluaron: triglicéridos, hemoglobina, bilirrubina conjugada y no conjugada. Se consideró que existía interferencia cuando el desvío relativo era superior al 10 %.

Los resultados obtenidos en Konelab 60i

Tabla I

Fer-color AA líquida - Konelab 60i						
Control	Valor teórico (ug/dl)	Rango aceptable (ug/dl)	Resultados (ug/dl)	Promedio (ug/dl)	DRP (%)	Desvío (ug/dl)
Precipath U, Roche L. 168309	167	137-197	172,2 173,1	172,7	3,38	5,65
Precinorm U, Roche L. 168314	121	100-142	117,2 117,3	117,3	-3,10	-3,75
Control nivel 2, Randox, L. 524	96,1	78,8-113	102,3 98,3	100,3	4,37	4,20
Control nivel 3, Randox, L. 306	185	167-203	190,6 191,6	191,1	3,30	6,10

Precisión

Los estudios se realizaron aplicando el protocolo EP15-A del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Se observó (tabla II) que los coeficientes de variación correspondientes a ensayos de precisión intracorrida y total no superaron el 2% en Konelab y fueron perfectamente aceptables en el resto de los equipos (criterio de aceptación < 6,6 % calculado de acuerdo a la variabilidad biológica).

en muestras cuya concentración abarcaron todo el rango de medición analítica. Como reactivo de competencia se usó Fe Roche/Hitachi 911, método colorimétrico directo que emplea Ferrozina sin desproteinización. Se analizaron 100 muestras en este ensayo durante distintos días.

Se llevó a cabo además una comparación de mediciones realizadas a muestras pediátricas (pacientes < 12 años) recolectadas al azar.

(gráfico 3) mostraron que no se evidenció interferencia hasta 1500 mg/dl de triglicéridos, 300 mg/dl de hemoglobina, 12 mg/dl de bilirrubina conjugada y 35 mg/dl de bilirrubina no conjugada.

Estabilidad on board

Los reactivos se colocaron destapados dentro del analizador automático Konelab 60i con el objetivo de ensayarlos periódicamente en cuanto a su reactividad y aspecto.

Tabla II

	Konelab 60i	BT 3000 Plus	Metrolab 2300 Plus	Selectra 2	Express Plus	Targa BT 3000
Media	61,8 ug/dl	55,72 ug/dl	58,9 ug/dl	55,5 ug/dl	59,4 ug/dl	67 ug/dl
CV _{wr}	1,40%	4,60%	0,85%	1,65%	1,28%	1,46%
CV _t	1,42%	6,78%	2,44%	3,12%	2,01%	3,54%

	Konelab 60i	BT 3000 Plus	Metrolab 2300 Plus	Selectra 2	Express Plus	Targa BT 3000
Media	236,3 ug/dl	225,8 ug/dl	231,8 ug/dl	223,5 ug/dl	228,7 ug/dl	242,3 ug/dl
CV _{wr}	0,31%	1,65%	0,85%	1,16%	0,93%	0,65%
CV _t	1,20%	2,80%	1,23%	1,93%	1,12%	1,37%

Linealidad

Se evaluó la capacidad del test para obtener resultados directamente propor-

En ambos casos se observó muy buena correlación entre los distintos métodos ensayados (gráfico 2).

Se encontró que su performance no se alteró luego de 30 días de permanecer en esas condiciones.

Valores teóricos

Adultos

Hombres: 65 a 175 ug/dl (11,6-31,3 umol/l)
Mujeres: 50 a 170 ug/dl (9-30,4 umol/l)

Conclusiones

Las investigaciones realizadas en el laboratorio sobre técnicas para la determinación de hierro en suero y/o plasma han permitido desarrollar un innovador kit de reactivos sensible, exacto y robusto. El método colorimétrico propuesto puede utilizarse en forma manual así como adaptarse fácilmente a los analizadores automáticos. Los estudios de precisión indicaron que los reactivos presentan robustez en el desempeño diario y una excelente comparación con reactivos existentes en el mercado. Este nuevo kit aporta simplicidad operacional ya que contiene reactivos líquidos de elevada estabilidad y listos para usar.

Bibliografía

- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; - "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry", 5ª edición, 2001.
- Imbert-Bismut et al. - Clin. Chem. 47/ 11:2059-2061, 2001.
- Tietz, N.W.; Rinker, A.D.; Morrison, S.R. - Clin. Chem. 40/4:546-551, 1994.
- Artiss, J.D. et al. - Clin. Biochem. 14/ 6:311-315, 1981.
- Smith, F.E. - Clin. Biochem. 17:306-310, 1984.
- Fraser, C.G.; Biological Variation: From Principles to Practice, AACC Press, 2001.

Gráfico 1

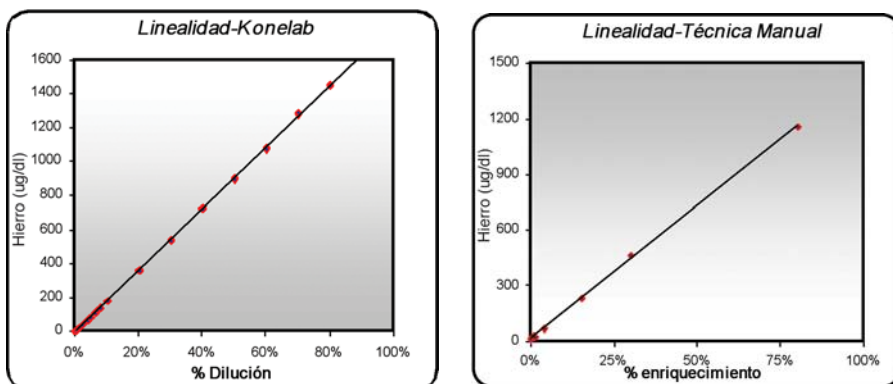


Gráfico 2

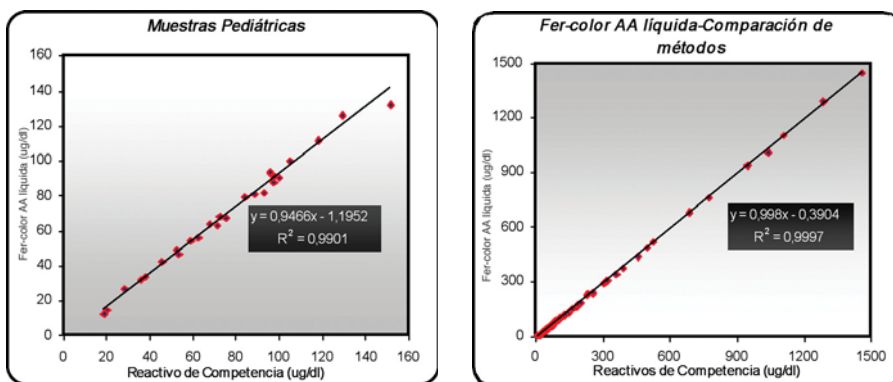
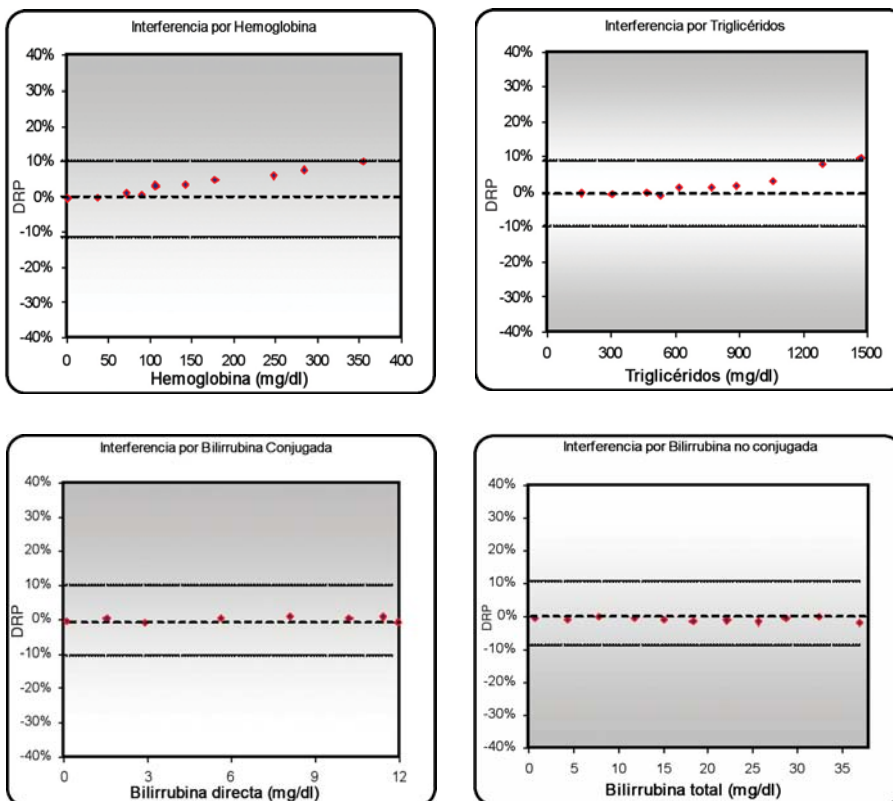


Gráfico 3



Evaluación del Wiener lab. Counter 19 Parte II

De Vuono, D.; Capriotti G. CIBIO, Wiener lab., Rosario - Argentina

Introducción

El analizador hematológico Wiener lab. Counter 19 fue comparado con un analizador de características similares, capaz de realizar un diferencial leucocitario de 3 subpoblaciones. La evaluación se realizó en un hospital de la ciudad de Rosario, Argentina y en el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos.

Objetivo

Evaluar el desempeño del Wiener lab Counter 19 comparándolo con el Sysmex KX 21N.

Materiales y métodos

Instrumentos

- Sysmex KX 21N, Sysmex Corp., Japan
- Wiener lab. Counter 19, Wiener Laboratorios, Argentina

Reactivos y muestras

Para cada analizador se utilizaron los reactivos recomendados por los fabricantes de los equipos. Todos los reactivos se mantuvieron a temperatura ambiente. Wiener lab. Counter 19 fue calibrado tomando como referencia los instrumentos de comparación con muestras frescas de pacientes normales.

A los fines de los estudios de comparación de equipos, se utilizaron muestras frescas de pacientes internados y ambulatorios, anticoaguladas con EDTA.

El intervalo entre el análisis de las muestras en el equipo de comparación y Wiener lab. Counter 19 no superó un intervalo de 10 minutos y no se realizó más

allá de los 90 minutos de extraída la muestra.

Comparación de Instrumentos

El Wiener lab. Counter 19 fue comparado con el Sysmex KX 21N (tabla I). Todas las muestras se procesaron primero en el analizador de referencia y posteriormente en Wiener lab. Counter 19. Los valores de los coeficientes de correlación (r) de los diferentes parámetros, para que exista una buena correlación, deben ser mayores a 0,95 para WBC, RBC, HGB, MCV, HCT, PLT, mayores a 0,90 para LYMPH% (porcentaje de linfocitos), GRAN% (porcentaje de granulocitos neutrófilos) y mayores a 0,60 para MID% (porcentaje que incluye la suma de eosinófilos, basófilos y monocitos).

Tabla I

Parámetro	Unidad	r
WBC	$\times 10^9/L$	0,9969
Lymph%	%	0,9653
Mid%	%	0,7284
Gran%	%	0,9498
RBC	$\times 10^{12}/L$	0,9942
HGB	g/dL	0,9971
MCV	fL	0,9887
HCT	%	0,9924
PLT	$\times 10^9/L$	0,9915

n = 248

Estimación del BIAS

Para evaluar la incidencia de los errores de medición inherentes a las diferencias de equipos, en base a las rectas de regresión obtenidas para cada parámetro y a los intervalos de decisión médica, se estimó el BIAS o diferencia absoluta en dichos niveles (tabla II).

WBC: a pesar de que en el primer nivel de decisión médica, la diferencia relativa llega casi a un 4,5% debido a que los valores absolutos son muy bajos y porcentualmente la diferencia tiene mucho peso, clínicamente no tiene significancia. En el resto de los niveles, tanto estadística como clínicamente, las diferencias no son significativas.

RBC: sin diferencias significativas en ningún nivel de decisión médica.

HGB y HCT y MCV: sin diferencias significativas.

PLT: existen cinco niveles de decisión médica. En estos niveles vemos, que si bien, porcentualmente la diferencia relativa es casi de un 6%, en valores absolutos no lo es y carece de significado clínico. Ya en niveles cercanos a la normalidad o elevados, las diferencias son despreciables.

Tabla II

Parámetro	Niveles de decisión médica	Bias estimado	
		absoluto	relativo
WBC ($\times 10^9/L$)	0,50	0,02	4,5%
	3,00	0,09	3,0%
	12,00	0,33	2,7%
	30,0	0,80	2,7%
HGB (g/dL)	4,5	0,2	3,9%
	10,7	0,3	2,7%
	17,0	0,4	2,4%
	23,0	0,5	2,2%
RBC ($\times 10^{12}/L$)	1,40	0,07	5,0%
	3,20	0,13	3,9%
	5,10	0,19	3,6%
	6,90	0,24	3,5%
HCT (%)	14,0	0,4	3,1%
	33,0	1,0	3,0%
	56,0	1,7	3,0%
	70,0	2,1	3,0%
MCV (fL)	80,0	-2,1	-2,6%
	100,0	-2,6	-2,6%
PLT ($\times 10^9/L$)	10	-1	-5,3%
	50	-3	-5,7%
	100	-6	-5,7%
	600	-34	-5,7%
	1000	-57	-5,7%

Conclusiones

En el presente trabajo se evaluó la performance del Wiener lab. Counter 19, bajo condiciones de trabajo normales. Se obtuvieron excelentes correlaciones del Wiener lab Counter 19 con el Sysmex KX 21N. El contador Wiener lab. Counter 19 ha probado ser un sistema confiable, que opera con muy poco ruido y es fácil de usar debido a su gran pantalla color de LCD y su mínimo mantenimiento diario.

Los resultados de las evaluaciones realizadas en laboratorios privados y hospitales demostraron que el Wiener lab. Counter 19 tiene una performance muy buena y es capaz de proveer resultados altamente confiables y precisos, en un amplio rango de niveles y tipos de muestras.