

Determinación cuantitativa de zinc IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Ensayo colorimétrico directo sin desproteinización de muestra. Incrementos de absorbancia a punto final.

A pH 8,6, en medio tamponado el zinc reacciona con el agente complejante 5-Br-PAPS formando un compuesto coloreado estable.

La intensidad del color es proporcional al total de zinc presente en la muestra.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Deficiencias nutricionales de zinc, en humanos prevalecen por todo el mundo, se caracterizan por un retraso en el crecimiento en niños y adolescentes, hipogonadismo en mujeres, dermatitis suave, poco apetito, retraso en la curación de heridas, mala adaptación a la oscuridad, letargo mental y alteraciones en la respuesta inmune.

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

REACTIVOS

R 1 Tampón	Good. pH 8,6	0,2 mol/L
R 2 Color	5 Br-PAPS	1,1 mmol/L
R 3 Ácido reductor	Ácido Ascórbico (polvo)	

ZINC CAL

Patrón primario de zinc 200 µg/dL

CALIBRACIÓN

El valor del ZINC CAL es trazable al material de referencia del NITS (National Institute of Standards and Technology).

PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

- Reactivo de trabajo (RT): Añadir (→) una dosis de R3 (medir usando la cuchara que se incluye) a un vial de R1. Mezclar, hasta su completa disolución. Estabilidad: 30 días a 2-8°C, si se mantienen los viales bien cerrados y se evita su contaminación. No usar si aparece turbidez.
- R2: Listo para su uso. Una vez abierto, es estable 90 días si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C y se evita su contaminación.
- TÉCNICA MONOREACTIVA: Mezclar 10 volúmenes de la solución RT con 1 volumen R2. Estabilidad: 10 días a 20-8°C.
- ZINC CAL: Listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales 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.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 560 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Suero o plasma¹: Sin hemolizar. Usar sólo heparina como anticoagulante. Estabilidad 7 días a 2-8°C.
- Fluido seminal: centrifugar la muestra 10-15 minutos a 3000 r.p.m. Diluir el sobrenadante 1/100 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 100. Estabilidad 7 días a 2-8°C.
- Orina de 24 horas.

PROCEDIMIENTO

1. Atemperar los reactivos antes de su uso. Un cambio proporcional en los volúmenes indicados no varía el resultado.
2. Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 560 nm (550-580)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura 25 / 30 / 37°C
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
4. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Agua destilada (µL)	50	-	-
Patrón ^(Nota 2) (µL)	--	50	--
Muestra (µL)	--	--	50

5. Mezclar y leer la absorbancia (A₁) de la muestra frente al Blanco de reactivo. Añadir:

	Blanco	Patrón	Muestra
R2 (µL)	100	100	100

6. Mezclar e leer la absorbancia (A₂) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 1 hora.

CÁLCULOS

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{ Muestra}}{(A_2 - A_1) \text{ Patrón}} \times 200 \text{ (Conc. Patrón)} = \mu\text{g/dL de zinc en la muestra}$$

Factor de conversión: µg/dL x 0,153 = µmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

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 REFERENCIA¹

Suero o plasma: 68 - 107 µg/dL ≅ 10,4 - 16,4 µmol/L
 Fluido seminal centrifugado: 2 - 10 mg/dL ≅ (0,31 - 1,53 mmol/L)
 Orina de 24 horas: 150 - 1200 µg/dL

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 4 µg/dL hasta el límite de linealidad de 2000 µg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)			Interserie (n= 20)		
Media (µg/dL)	76,7	198	307	77,5	202	300
SD	2,29	4,60	3,38	1,14	0,90	3,27
CV (%)	2,95	2,27	1,13	1,46	0,45	1,09

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 60 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,027x - 2,7873.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirrubina hasta 15 mg/dL, hemoglobina hasta 0,5 g/dL y triglicéridos hasta 1000 mg/dL.

El EDTA interfiere en el ensayo.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del zinc^{2,3}.

NOTAS

1. ZINC CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
2. Se recomienda utilizar material de plástico de un solo. Si se usa material de vidrio deberá lavarse con Ácido clorhídrico 1N, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
3. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
4. **SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

1. *Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.*
2. *Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. 1984.*
3. *Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.*
4. *Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.*

PRESENTACIÓN

Cod: 1001350	Cont.	5 x 10 mL
--------------	-------	-----------

Quantitative determination of zinc IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Direct colorimetric test without deproteinization of the sample. End point increase. At pH 8.6, in a buffered media, zinc reacts with the specific complexant 5-Br-PAPS, forms a stable coloured complex. The colour intensity is proportional to the amount of zinc present in the sample.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Nutritional zinc deficiency in humans is fairly prevalent throughout the world, deficiency is characterized by growth retardation in children and adolescents, hypogonadism in males, mild dermatitis, poor appetite, delayed wound healing, abnormal dark adaptation, and mental lethargy and impaired immune responses. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	Buffer	Good. pH 8.6	0.2 mol/L
R 2	Color	5-Br-PAPS	1.1 mmol/L
R 3	Reducing acid	Ascorbic acid (powder)	
ZINC CAL	Zinc primary standard 200 µg/dL		

CALIBRATION

The ZINC CAL value is verified using NIST (National Institute of Standards and Technology) traceable reference Standard.

PREPARATION AND STABILITY

- Working reagent (WR): Add (→) one dose (dispense using the enclosed spoon) of R3 to one vial of R1. Cap and mix gently to dissolve contents. (WR) is stable after reconstitution 30 days at 2-8°C when stored tightly closed and contaminations prevented during their use. Do not use if appears turbid.
- R2: Ready to use. After opening, is stable 90 days 2-8°C, if contamination avoided and vial recapped immediately after use.
- ZINC CAL: Ready to use.

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.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 560 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment^(Note 1).

SAMPLES

- Serum or plasma¹: Not hemolyzed. Use only heparin salts as anticoagulants. Stability: 7 days at 2-8°C.
- Seminal fluid: Centrifuge the sample at 3000 r.p.m. for 10-15 minutes. Dilute supernatant 1/100 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 100. Stability: 7 days at 2-8°C.
- 24 h urine.

PROCEDURE

1. Allow reagents to reach working temperature before using. A proportional variation of the reaction volumes indicated does not change the result.
2. Assay conditions:
Wavelength: 560 nm (550-580)
Cuvette: 1 cm light path
Temperature 25 / 30 / 37°C
3. Adjust the instrument to zero with distilled water.
4. Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
WR (mL)	1.0	1.0	1.0
Distilled water	50	-	-
Standard ^(Note 2) (µL)	--	50	--
Sample (µL)	--	--	50

5. Mix and read the absorbance (A₁) of the samples against the Blank. Add:

	Blank	Standard	Sample
R2 (µL)	100	100	100

6. Mix and read the absorbance (A₂) of sample and standard against Blank. The colour is stable for at least 1 hour.

CALCULATIONS

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{ Sample}}{(A_2 - A_1) \text{ Standard}} \times 200 \text{ (Standard conc.)} = \mu\text{g/dL zinc in the sample}$$

Conversion factor: µg/dL x 0.153 = µmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

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 VALUES¹

Serum or plasma:	68 - 107 µg/dL	≅ 10.4 - 16.4 µmol/L
Centrifuged seminal fluid:	2 - 10 mg/dL	≅ (0.31 - 1.53 mmol/L)
24 h urine	150 - 1200 µg/dL	

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

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 4 µg/dL to linearity limit of 2000 µg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

Precision:

	Intra-assay (n=20)			Inter-assay (n=20)		
Mean (µg/dL)	76.7	198	307	77.5	202	300
SD	2.29	4.60	3.38	1.14	0.90	3.27
CV (%)	2.95	2.27	1.13	1.46	0.45	1.09

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 60 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0.99.

Regression equation: 1.027x - 2.7873.

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

INTERFERENCES

No interferences were observed to bilirubin up to 15 mg/dL, hemoglobin up to 0.5 g/dL and triglycerides up to 1000 mg/dL.

EDTA interfere in the test.

A list of drugs and other interfering substances with zinc determination has been reported by Young et. al^{3,4}.

NOTES

1. ZINC CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
2. It is recommended to use disposable material. If glassware is used the material should be scrupulously cleaned with hydrochloric acid 1 N and then thoroughly rinsed it with distilled water.
3. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
4. **SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
2. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co.1984.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PACKAGING

Cod: 1001350	Cont.	5 x 10 mL
--------------	-------	-----------