

RIF. 10229-4 4 x 20 ml / 6 ml

CAPACITÀ FERRO-LEGANTE TOTALE (TIBC)

Flaconi contenenti ciascuno 20 ml di reagente R1 e 6 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

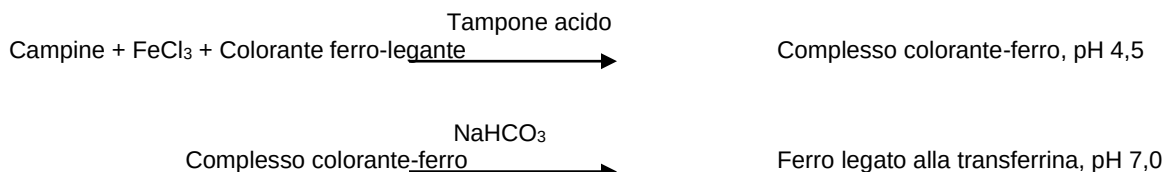
Il reagente TIBC EasyRA è indicato per la misurazione quantitativa della capacità ferro-legante totale in siero umano utilizzando l'analizzatore chimico MEDICA EasyRA®. Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

La capacità ferro-legante totale ("TIBC") è la misura della concentrazione massima di ferro che le proteine di siero possono legare. Insieme alla concentrazione totale di ferro serico, la capacità ferro-legante (TIBC) trova applicazione nella diagnosi e nella cura dell'anemia da carenza di ferro, in altri disturbi del metabolismo del ferro e nei disturbi infiammatori cronici. Quale indice dello stato nutrizionale, la TIBC riflette il grado di saturazione della transferrina con ferro serico. La TIBC serica risulta maggiore nei casi di carenza di ferro e risulta minore nei casi di anemia dovuti a patologie croniche.¹⁻³

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Fase 1: Il Reagente 1 (R1), un tampone acido contenente un colorante ferro-legante e cloruro ferrico, viene aggiunto al campione di siero. Il pH ridotto del reagente R1 rilascia ferro dalla transferrina. Il ferro rilasciato forma un complesso colorato mediante un colorante. Il complesso colorato al termine di questa prima fase rappresenta sia il ferro serico sia il ferro in eccesso già presente nel reagente R1. Fase 2: Viene quindi aggiunto il Reagente 2 (R2), un tampone neutro, con variazione del pH e con il conseguente notevole aumento dell'affinità della transferrina per il ferro. La transferrina serica si lega rapidamente al ferro estraendolo dal complesso colorante-ferro. La diminuzione dell'assorbanza del complesso colorato colorante-ferro è direttamente proporzionale alla capacità ferro-legante totale del campione di siero.



REAGENTI

Il Reagente 1 (R1) contiene: cromazuolo B, cetrimide, cloruro ferrico, tampone acetato, stabilizzatori e conservanti

Il Reagente 2 (R2) contiene: bicarbonato di sodio, tampone, stabilizzatori e conservanti.

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. I reagenti contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza presente sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 2-8 °C. Non utilizzare il reagente nel caso si presenti torbido od opaco.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

1. Solo campioni di siero. NON UTILIZZARE PLASMA.
2. I campioni devono essere separate dai globuli rossi e analizzati immediatamente.
3. Nel caso il campione non possa essere analizzato nell'immediatezza o debba essere trasportato presso un laboratorio di riferimento, il siero delle essere separati dai globuli rossi subito dopo l'acquisizione.
4. Una volta effettuata la separazione, il siero può essere conservato a una temperatura di 2 – 8 °C per un periodo fino a 2 giorni, oppure a una temperatura di -20 °C fino a un mese.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente TIBC Medica, RIF 10229-4

Ulteriore materiale necessario

Calibratore TIBC Medica, RIF 10657
Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Level A, REF 10793
Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794
Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, RIF. 10764
Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, RIF 10660 o
Flacone di detergente Medica – Chimica, RIF. 10661
Flacone di lavaggio 1 (Wash1) Medica, RIF 10680*

*Il flacone di lavaggio 1 (Wash1) è necessario a causa delle interferenze tra TIBC e altre analisi sull'analizzatore EasyRA. Quando necessario, l'analizzatore EasyRa eseguirà automaticamente il ciclo di lavaggio.

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore EasyRA situato nell'area reagenti. Rimuovere il tappo solo nel momento in cui sia necessario per l'esecuzione di una lista di lavoro. Tenere i flaconi dei reagenti ben chiusi quando non sono in uso. Se usato il questo modo, il reagente è stabile on-board nel vano reagenti refrigerato dell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone di reagente (21 giorni massimo).

Nota: verificare che non sia presente schiuma nella parte interna del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e aver collocato il flacone sull'analizzatore. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test. Usare pipette monouso o tamponi diversi per i reagenti R1 e R2.

Calibrazione

Per la calibrazione dell'analisi si consiglia il Calibratore TIBC Medica (RIF 10657). La concentrazione di TIBC viene ricavata da una curva lineare standard basata su una regressione lineare con metodo dei minimi quadrati su una calibrazione in 2 punti. Fare riferimento all'inserto del Calibratore per le concentrazioni, la preparazione, la conservazione e le istruzioni per l'uso. L'intervallo di calibrazione (massimo 21 giorni) è programmato sul chip RFID posto sul flacone del reagente. Ogni qual volta il numero di lotto del reagente cambia o si verifica uno spostamento nei valori di controllo qualità è necessario eseguire nuovamente la calibrazione.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi quotidianamente, ogni volta che vengono eseguiti i test di un paziente e il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità. Non usare il reagente nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

Risultati

Dopo il completamento dell'analisi, l'analizzatore EasyRA calcola la concentrazione TIBC a 660 nm in corrispondenza di due punti fissi, T1 e T2, durante il periodo di incubazione, e viene calcolata la variazione tra queste due letture. Dopo l'esecuzione di una calibrazione, vengono determinati i risultati TIBC in campioni incogniti usando la curva di calibrazione memorizzata e l'assorbanza misurata nell'analisi di ogni campione.

$$\text{TIBC}(\mu\text{g} / \text{dL}) = \frac{[A_{U_{660T2}} - (A_{U_{660T1}} * dF)_{SBIK}] - b}{m}$$

Dove A_U è il valore dell'assorbanza del campione incognito; $SBIK$ indica il bianco campione; poiché il volume della reazione viene modificato dall'aggiunta ritardata del reagente R2, nel calcolo è compreso un fattore di correzione della diluizione (dF); b è l'intercetta della curva di calibrazione ed m è la pendenza della curva di calibrazione.

Valori attesi⁴

L'intervallo di riferimento per la capacità ferro-legante totale nel siero è il seguente:

250 – 425 $\mu\text{g}/\text{dl}$

Tali valori rappresentano delle linee guida. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es. se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

L'analizzatore EasyRA evidenzia qualunque risultato al di sopra dei 700 mg/dl come "LH" (linearità alta). Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test TIBC viene esteso a 1400 mg/dl.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE**Intervallo accettabile**

L'intervallo accettabile è compreso tra 70 e 700 µg/dl. L'intervallo esteso è compreso tra 70 e 1400 µg/dl quando viene utilizzata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del reagente Medica per capacità ferro-legante totale ("TIBC") (y) su un analizzatore EasyRA con la prestazione dello stesso reagente TIBC (x) sull'analizzatore Hitachi 911. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore EasyRA rispetto alla media dei valori replicati ottenuti sull'analizzatore Hitachi 911.

Numero di campioni	83	Intervallo dei campioni	81 - 668 µg/dl
Pendenza	1,0043	Intercetta y	-5,4453
Coefficiente di correlazione	0,9982	Equazione di regressione	$Y = 1,0043 \cdot X - 5,4453$

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello µg/dl	SD intra-serie µg/dl	CV intra-serie %
235	5,41	2,30
332	5,92	1,78

Imprecisione totale:

Livello µg/dl	SD imprecisione totale µg/dl	CV imprecisione totale %
235	6,94	2,95
332	7,15	2,15

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 70 a 700 µg/dl, basata sull'equazione di regressione lineare $Y = 1,0295 \cdot X - 16,442$.

Sostanze interferenti (CLSI, EP7-A)

Utilizzando sieri normali (TIBC media: circa 350 µg/dl), un'interferenza inferiore al 10% è stata classificata come "interferenza non significativa".

In livelli fino a 1.000 mg/dl di emoglobina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 32 mg/dl di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 828 mg/dl di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

In livelli fino a 8 mg/dl di acido ascorbico non sono state riscontrate interferenze significative.

*Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con i test chimici clinici^{5,6}.

RIFERIMENTI

1. Tietz NW (ed). Textbook of Clinical Chemistry, ed. 3. Philadelphia PA: WB Saunders; 1701-1703; 1999.
2. CLSI. Determination of Serum Iron and Total Iron Binding Capacity; Approved Standard, CLSI Document H17-A. Wayne, PA: NCCLS, Vol. 10, N. 4; 1998.
3. Gambino R., et al. The Relation Between Chemically Measured Total Iron-Binding Capacity Concentrations and Immunologically Measured Transferrin Concentrations in Human Serum. Clin. Chem. 43: 2408-2412, 1997.

4. Bishop M.L., et al. *Clinical Chemistry, Principles, Procedures, Correlations*, 5th edition, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD (2005).
5. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
6. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

PARAMETRI DELL'ANALISI EASYRA (TIBC)

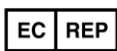
Lunghezza d'onda (nm)	660
Tipo di reazione	Punto finale
Direzione di reazione	Diminuzione
Bianco reagente	No
Bianco campione	Sì
Primo interv. max. camb. assorb.	N/D
Tempo di reazione	12 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	21 giorni
Stabilità on-board del reagente	21 giorni

Siero

Volume del campione (µl)	16
Volume del diluente (µl)	0
Volume del reagente R1 (µl)	200
Volume del reagente R2 (µl)	60
Posizioni decimali (valori predefiniti)	0
Unità (valori predefiniti)	µg/dl
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Linearità	70 - 700 µg/dl



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands