

MEDICA

REF 10223-4 4 x 19 ml/5 ml

FER (Fe)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 19 ml de réactif R1 et 5 ml de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

Le réactif Fer EasyRA permet de mesurer la quantité de Fer (Fe) dans le sérum humain, grâce à « l'analyseur chimique MEDICA EasyRA » dans les laboratoires cliniques. Les mesures du fer permettent le diagnostic et le traitement de l'anémie ferriprive, l'hémochromatose et la maladie rénale chronique. Pour diagnostic *in vitro* uniquement.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le fer (Fe) est un métal qui intervient dans la synthèse de l'hémoglobine et d'un certain nombre d'enzymes et coenzymes cellulaires. Le dosage du fer est utilisé dans le diagnostic et le traitement des anémies, des maladies inflammatoires chroniques, des hépatites et du saturnisme.¹ La transferrine est une protéine qui permet le transport du fer dans le sérum. Le dosage du fer dans le sérum s'effectue par la séparation du fer et de sa protéine de transport, et par la formation d'un complexe entre le fer libéré et un agent chélateur, mesuré par une méthode spectrophotométrique.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Une méthode photométrique décrite précédemment par Stookey² implique la réaction de 3 ions ferreux libres pour former un complexe tris-ferrozine/fer (Fe(FZ)₃). La procédure de dosage Medica utilise un composé appelé 5,5' (3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazine-5,6 diyl)-bis-2-acide furansulfonique, sel disodique (Ferene)[®], aujourd'hui largement disponible.^{3, 4, 5} Ferene[®] est un chélateur du fer qui forme un complexe tris avec des ions ferreux, et dont l'absorptivité molaire est supérieure à celle de la ferrozine. Il est très soluble et stable à un pH compris entre 4 et 9. Dans un milieu acide, le complexe fer-transferrine se dissocie et libère des ions ferriques, qui sont réduits en ions ferreux en présence d'acide ascorbique.



Les ions ferreux réagissent alors avec le chromogène de type Ferene[®] pour former un chromophore bleu :



L'absorbance de ce complexe bleu, mesurée à 600 nm, est directement proportionnelle à la concentration en fer de l'échantillon.

RÉACTIFS

Réactif acide pour dissociation (R1) :

Tampon acétate (pH 4,5) $\geq 0,63$ mmol/l
Acide ascorbique $\geq 38,0$ mmol/l

Réactif R2 (colorant réagissant au fer) :

Ferene[®] $\geq 0,964$ mmol/l

Surfactant, conservateurs, stabilisants.

Précautions

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (NCCLS, GP17-A2).
2. Le réactif contient moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

Instructions concernant la manipulation, le stockage et la stabilité du réactif

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C. Le réactif ouvert, conservé à bord de l'analyseur chimique Medica EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Si l'analyseur n'est pas équipé de l'option réfrigérante, les réactifs doivent être refermés et stockés entre 2 et 8 °C après utilisation. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

Prélèvement des échantillons, stockage/stabilité

Utiliser du sérum clair non hémolysé. Passer à la centrifugeuse et extraire le sérum le plus tôt possible après le prélèvement. Le sérum Fe est stable pendant 4 jours entre 18 et 25 °C ou 7 jours entre 2 et 8 °C.⁷

Limites et interférences des additifs présents dans les tubes de prélèvements

Utiliser uniquement des tubes et des seringues ne contenant pas de fer pour effectuer les prélèvements sanguins.

PROCÉDURE

Matériel fourni

Cartouche de réactif Medica Fe, REF 10223

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica EasyCal – Chimie, REF 10651

Medica EasyQC, Niveau A – Chimie/Électrolytes, REF 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, REF 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, REF 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, REF 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, REF 10661

Mode d'emploi

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur chimique Medica EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif à bord (26 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau des collets de la cartouche après avoir retiré les bouchons et placé la cartouche sur l'analyseur. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test. Utiliser des écouvillons ou pipettes jetables différents pour R1 et R2.

Étalonnage

Medica EasyCal - Chimie, Réf. 10651 est recommandé pour étalonner le dosage. L'intervalle d'étalonnage (26 jours maximum) est programmé dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Un nouvel étalonnage doit être effectué à chaque changement de numéro de lot de réactifs ou en cas d'écart entre les valeurs du contrôle de qualité.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à base de sérum humain à chaque dosage, au moins toutes les 8 heures et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. En outre, le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur chimique Medica EasyRA calcule la concentration en fer à partir du rapport entre l'absorbance corrigée de l'échantillon (soit l'absorbance de blanc du réactif moins l'absorbance du blanc de l'échantillon) et l'absorbance corrigée de l'étalon (soit l'absorbance de blanc du réactif moins l'absorbance du blanc de l'échantillon), multiplié par la concentration de l'étalon.

$$\text{Fe } (\mu\text{g/dl}) = \frac{[(A_{U_{600}} - A_{R_{BIk_{600}}}) - [(A_{U_{600}} - A_{R_{BIk_{600}}})]_{S_{BIk}} \times dF]}{[(A_{C_{600}} - A_{R_{BIk_{600}}}) - [(A_{C_{600}} - A_{R_{BIk_{600}}})]_{S_{BIk}} \times dF]} \times \text{CalValue}$$

Où A_U représente l'absorbance de l'inconnu. $A_{R_{BIk}}$ correspond à l'absorbance du blanc du réactif associé à l'échantillon à déterminer, et S_{BIk} à l'absorbance du blanc de l'échantillon associé à l'échantillon à déterminer. Les taux d'absorbance comportant la lettre C en indice sont associés à l'étalon. La réaction étant modifiée avec l'ajout, dans un deuxième temps, du réactif R2, un facteur de correction de dilution (dF) est intégré au calcul.

Valeurs attendues⁸

L'intervalle des valeurs de référence pour le fer dans le sérum est le suivant :

Homme : de 65 à 170 $\mu\text{g/dl}$

Femme : de 50 à 170 $\mu\text{g/dl}$

Les concentrations sériques en fer sont variables au cours de la journée, avec des valeurs maximales en début de journée.

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Utiliser uniquement des échantillons de sérum non hémolysé.

L'analyseur chimique Medica EasyRA signale tout résultat supérieur à 750 µg/dl en Haute Linéarité « HL ». Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura effectivement pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage du fer jusqu'à 1 500 µg/dl.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES⁹

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 4 et 750 µg/dl. Il est compris entre 4 et 1 500 µg/dl lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

Inexactitude/corrélation (NCCLS, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le réactif Fer Medica (y) avec l'analyseur chimique Medica EasyRA (y) et un réactif Fer semblable (x) avec l'analyseur Roche COBAS MIRA. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus sur l'analyseur Medica EasyRA versus la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double sur l'analyseur Roche COBAS MIRA.

Nombre d'échantillons	48	Intervalle d'échantillons	de 4 à 742 µg/dl
Courbe	1,0849	Intersection avec l'axe des Y	1,0616
Coefficient de corrélation	0,9986	Équation de régression :	Y = 1,0849*X – 1,0616

Imprécision (NCCLS, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux du contrôle de qualité mg/dl	DS intra-série mg/dl	CV intra-série %
181	1,2	0,7
107	0,8	0,8
70	1,0	1,4

Imprécision totale :

Taux du contrôle de qualité mg/dl	Imprécision totale DS mg/dl	Imprécision totale CV %
181	2,9	1,6
107	1,8	1,7
70	1,3	1,8

Linéarité (NCCLS, EP6-A)

Linéarité comprise entre 4 et 750 µg/dl, en fonction de la régression linéaire $Y = 1,0125 * X + 0,2697$.

Limite du blanc (LdB) :	0,09 µg/dl	(NCCLS, EP17-A)
Limite de détection (LD) :	1,27 µg/dl	(NCCLS, EP17-A)
Limite de quantification (LQ) :	4,00 µg/dl	(NCCLS modifié, EP17-A)

Substances interférentes (NCCLS, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune d'interférence significative ».

Il existe une interférence significative pour un taux d'hémoglobine supérieur à 30 mg/dl. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 25 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 1 200 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid*).

Les échantillons de patients atteints de la globulinémie de Waldenström ont un risque élevé d'interférence et peuvent produire des résultats peu fiables.

*Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{10, 11}

RÉFÉRENCES

1. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook or Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo (1994). p 2062.
2. Stookey, L.L., Ferrozine – A New Spectrophotometric Reagent for Iron. *Anal. Chem.* 42: 779 (1970).
3. Artiss, J.D., Vinogradov, S., Zak, B., Spectrometric Study of Several Sensitive Reagents for Serum Iron, *Clin. Biochem.* 14: 311-315 (1981).
4. Higgins, T., Novel Chromogen for Serum Iron Determinations, *Clin. Chem.* 27: 1619 (1981).
5. Artiss, J.D., Strandbergh, D.R., Zak, B., Study of Continuous Flow Automation for Serum iron on Comparing Several Sensitive Reagents. *Microchemical Journal*, 28: 275-284 (1983).
6. Ferene®; Registered Trademark of Diagnostic Chemicals Limited.
7. Weissman, N., Pileggi, VJ, In *Clinical Chemistry – Principles and Technics*, 2nd ed, R.J. Henry, D.C. Cannon, J.W. Winkelman, Editors, Harper & Roe, Hagerstown, Md, (1974) pp 684, 685, 695.
8. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook or Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo (1994) p 2195.
9. Documentation de Medica.
10. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
11. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

Paramètres du dosage (Fe) EasyRA

Longueur d'onde principale (nm)	600
Longueur d'onde secondaire (nm)	700
Mode réactionnel	Point final (2)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Double (à chaque étalonnage)
Blanc de l'échantillon	Oui
Durée de la réaction	6 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	26 jours
Stabilité du réactif à bord	26 jours

Sérum

Volume de l'échantillon (µl)	20
Volume du diluant 1 (µl)	10
Volume du diluant 2 (µl)	10
Volume du réactif R1 (µl)	150
Volume du réactif R2 (µl)	30
Emplacements décimaux (valeurs par défaut)	0
Unités (valeurs par défaut)	µg/dl
Facteur de dilution pour augmenter l'intervalle de dosage	1:1
Linéarité	4 jusqu'à 750 µg/dl