

MEDICA

REF 10223-4 4 x 19 ml / 5 ml

FERRO (Fe)

Flaconi contenenti ciascuno 19 ml di volume utilizzabile di reagente R1 e 5 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

Il reagente per ferro EasyRA è indicato per la misurazione quantitativa del ferro (Fe) nel siero umano, utilizzando l'analizzatore chimico MEDICA EasyRA in laboratori clinici. Le misurazioni del ferro trovano applicazione nella diagnosi e nella cura dell'anemia da carenza di ferro, nell'emocromatosi e nella patologia renale cronica.

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

Il ferro (Fe) è un metallo richiesto per la sintesi dell'emoglobina e per molti enzimi e coenzimi cellulari. Le misurazioni di ferro vengono usate nella diagnosi e nel trattamento delle anemie, dei disordini infiammatori cronici, delle epatiti e degli avvelenamenti da piombo.¹ Il ferro viene trasportato nel siero legato alla proteina transferrina. La misurazione del ferro serico viene eseguito rilasciando il ferro legato alla proteina di trasporto e unendo il ferro rilasciato ad un composto chelato che può essere misurato spettrofotometricamente.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il precedente metodo fotometrico riferito da Stookey² implica la reazione di ferro ferroso libero per formare un complesso tris ferrozina ferro (Fe(FZ)₃). La procedura di analisi Medica usa un composto denominato 5,5'(3-(2-piridil)-1,2,4 triazina-5,6 dil)bis acido furano solfonico, sale bisodico (Ferene)[®] che è diventato facilmente reperibile.^{3, 4, 5} Il Ferene[®] è un agente chelante del ferro che forma un tris complesso con gli ioni di ferro ed è dotato di un'assorbività molare superiore a quella della ferrozina, è altamente solubile e stabile oltre l'intervallo di pH 4-9. In un mezzo acido, il ferro legato alla proteina di trasporto ferritina si dissocia in ioni ferrici, che vengono ridotti in ioni ferrosi alla presenza di acido ascorbico:



Gli ioni ferrosi reagiscono quindi con il cromogeno Ferene[®] per formare un cromoforo blu:



L'assorbanza misurata a 600 nm di questo complesso blu è direttamente proporzionale alla concentrazione di ferro nel campione.

REAGENTI

Reagente per dissociazione acida (R1):

Tampone acetato (pH 4,5) > 0,63 mmol/l
Acido ascorbico > 38,0 mmol/l

Reagente colorimetrico per ferro (R2):

Ferene[®] > 0,964 mmol/l

Un surfattante, conservanti e agenti stabilizzanti.

Precauzioni

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (NCCLS, GP17-A2).
2. Il reagente contiene 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 riportata sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 2-8° C. Il reagente rimane stabile on-board nel vano reagenti refrigerato nell'analizzatore chimico Medica EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Se l'analizzatore non è dotato dell'opzione di refrigerazione, i reagenti devono essere ritappati dopo l'uso e conservati a una temperatura di 2-8° C. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

Prelievo e conservazione dei campioni/stabilità

È necessario usare siero pulito non emolizzato. Centrifugare ed eliminare il siero appena possibile dopo la raccolta. Il ferro serico è stabile per 4 giorni a 18-25° C e per 7 giorni a 2-8° C.⁷

Limiti e interferenza dei conservanti per le provette di raccolta

Per il prelievo del sangue, usare solo provette e siringhe prive di ferro.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente per ferro Medica, REF 10223

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyCal Chimica, REF 10651

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660, *oppure*

Flacone di detergente – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore chimico Medica EasyRA situato nell'area reagenti. La stabilità on-board (26 giorni massimo) è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

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 Medica EasyCal Chimica (REF 10651). L'intervallo di calibrazione (26 giorni massimo) 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 almeno una volta ogni 8 ore e ogni qual volta 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 inoltre attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore chimico Medica EasyRA calcola la concentrazione di ferro dal rapporto tra l'assorbanza corretta (sottraendo l'assorbanza del bianco reagente e del bianco campione) del campione e l'assorbanza corretta allo stesso modo del calibratore (dopo aver sottratto l'assorbanza del bianco reagente e del bianco campione) moltiplicato per la concentrazione del calibratore.

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

Dove A_U è l'assorbanza del campione sconosciuto, A_{RBik} è l'assorbanza del bianco reagente associato al campione sconosciuto, $SBik$ è il bianco campione associato al campione sconosciuto. Tutte le assorbanze contrassegnate da una "C" sono associate al calibratore. Conseguentemente all'aggiunta ritardata del reagente R2, nel calcolo è compreso un fattore di correzione della diluizione (dF).

Valori attesi⁸

L'intervallo di riferimento per il ferro serico è il seguente:

Maschio: 65 - 170 $\mu\text{g/dl}$

Femmina: 50 - 170 $\mu\text{g/dl}$

Le concentrazioni di ferro serico presentano delle variazioni nelle ore diurne, con picchi che si osservano la mattina presto.

Tali valori rappresentano esclusivamente delle linee guida consigliate. 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)

Usare esclusivamente campioni di siero non emolizzato.

L'analizzatore chimico Medica EasyRA evidenzia qualunque risultato al di sopra di 750 µg/dl come "LH" (linearità alta). Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ristato 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 del ferro viene esteso a 1.500 mg/dl.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁹

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile θ compreso tra 4 e 750 µg/dl. L'intervallo esteso è compreso tra 4 e 1.500 µg/dl quando viene utilizzata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (NCCLS, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del reagente per ferro Medica (y) su un analizzatore chimico Medica EasyRA alla prestazione di un reagente per ferro simile (x) sull'analizzatore Roche COBAS MIRA. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore chimico Medica EasyRA a fronte della media di 2 valori ripetuti ottenuti sull'analizzatore Roche COBAS MIRA.

Numero di campioni	48	Intervallo dei campioni	da 4 a 742 µg/dl
Pendenza	1,0849	Intercetta y	1,0616
Coefficiente di correlazione	0,9986	Equazione di regressione:	$Y = 1,0849 * X - 1,0616$

Imprecisione (NCCLS, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità 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 QC µg/dl	SD intra-serie µg/dl	CV intra-serie %
181	1,2	0,7
107	0,8	0,8
70	1,0	1,4

Imprecisione totale:

Livello QC µg/dl	SD imprecisione totale µg/dl	CV imprecisione totale %
181	2,9	1,6
107	1,8	1,7
70	1,3	1,8

Linearità (NCCLS, EP6-A)

Lineare da 4 a 750 µg/dl, basata sulla regressione lineare $Y = 1,0125 * X + 0,2697$.

Limite di vuoto (LOB):	0,09 µg/dl	(NCCLS, EP17-A)
Limite di rilevamento (LOD):	1,27 µg/dl	(NCCLS, EP17-A)
Limite di quantificazione (LoQ):	4,00 µg/dl	(NCCLS modificato, EP17-A)

Sostanze interferenti (NCCLS, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".

L'interferenza con livelli di emoglobina superiori a 30 mg/dl si presenta significativa. Non utilizzare campioni emolizzati.

In livelli fino a 25 mg/dl di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 1.200 mg/dl di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid[®]).

I campioni provenienti da pazienti con macroglobulinemia di Waldenstrom hanno un elevato potenziale di interferenza e potrebbero produrre risultati inaffidabili.

⁹Intralipid 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.^{10, 11}

RIFERIMENTI

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. Dati in archivio presso 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.

Parametri dell'analisi EasyRA (Fe)

Lunghezza d'onda principale (nm)	600
Lunghezza d'onda secondaria (nm)	700
Tipo di reazione	Punto finale (2)
Direzione di reazione	Aumento
Bianco reagente	Doppio (con ciascuna calibrazione)
bianco campione	Sì
Tempo di reazione	6 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	26 giorni
Stabilità on-board del reagente	26 giorni

Siero

Volume del campione (µl)	20
Volume del diluente 1 (µl)	10
Volume del diluente 2 (µl)	10
Volume del reagente R1 (µl)	150
Volume del reagente R2 (µl)	30
Posizioni decimali (valori predefiniti)	0
Unità (valori predefiniti)	µg/dl
Fattore di diluizione per estendere l'intervallo di misurazione	1:1
Linearità	da 4 a 750 µg/dl