

Usò previsto

Determinazione quantitativa del ferro totale nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

Storia del metodo diagnostico

Nel siero il ferro è presente in complesso con la transferrina, una proteina di trasporto. La maggior parte delle procedure iniziali per la determinazione del ferro prevedeva la dissociazione del ferro dal complesso ferro-proteina, la precipitazione delle proteine e la successiva misurazione del contenuto di ferro nel filtrato privo di proteine.

Per la sua misurazione venivano utilizzati molti cromogeni, tra cui l'o-fenantrolina tiocianata, la batofenantrolina e la TPTZ. Nel 1971, Persijn et al.¹ presentarono un metodo che utilizzava il cromogeno della ferrozina, descritto da Stookey.² Questo metodo non richiedeva la precipitazione delle proteine ed era più sensibile rispetto ai precedenti. La procedura presentata in questa sede è una modifica del metodo di Persijn.

Principio

Ferro sierico: il ferro legato alla transferrina viene rilasciato in presenza di un pH acido e ridotto da ioni ferrici a ioni ferrosi. Questi ioni reagiscono con la ferrozina andando a formare un complesso di colore viola che viene misurato spettrofotometricamente a 560 nm. L'assorbimento misurato a questa lunghezza d'onda è proporzionale alla concentrazione di ferro nel siero.

Interesse clinico³

Nella maggior parte dei casi, per ottenere un quadro diagnostico chiaro servono sia i valori del ferro che quelli della TIBC. Valori bassi di ferro sierico si riscontrano in caso di perdita cronica di sangue, assunzione o assorbimento insufficiente di ferro e aumento della necessità di riserve corporee (ad esempio, gravidanza). Valori elevati di ferro sierico si osservano in caso di aumentata emolisi, di ridotta eritropoiesi, di aumento dell'assunzione di ferro o rilascio delle riserve di ferro.

L'aumento della TIBC può essere dovuto a incrementi nella produzione di apotransferrina (ad esempio, carenza cronica di ferro) o a un maggiore rilascio di ferritina, come nel caso della necrosi epatocellulare.

Una diminuzione della TIBC può verificarsi in caso di cirrosi ed emocromatosi, a causa di una carenza di ferritina, o in caso di nefrosi dovuta alla perdita di apotransferrina.

Reagenti

1. Reagente (R1) tampone per ferro: Idrossilammina cloridrato 220mM in tampone acetato, pH 4,5 con tensioattivo.
2. Reagente (R2) colorante per ferro: Ferrozina 3,6mM in cloridrato di idrossilammina.

Precauzioni

1. Tutti i reagenti sono tossici. Non pipettare per bocca. Evitare ogni contatto.
2. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.

Conservazione dei reagenti

Conservare i reagenti a 2-8°C. Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Deterioramento dei reagenti

Tutti i reagenti devono essere limpidi. La torbidità può essere indice di contaminazione e pertanto il reagente non deve essere utilizzato.

Raccolta e conservazione dei campioni

1. I campioni devono contenere preferibilmente siero limpido non emolizzato.
2. Separare il siero non appena si forma il coagulo.
3. Il ferro sierico resta stabile per quattro giorni a temperatura ambiente (15-30°C) e per sette giorni a 2-8°C⁴.

Interferenze

1. È noto che alcuni farmaci e altre sostanze possono influenzare i livelli di ferro circolante. Si veda Young, et al.⁵
2. Utilizzando questo metodo, il ferro contenuto nell'emoglobina non reagisce, pertanto una leggera emolisi non produce interferenze. Invece, un'emolisi evidente (campioni rosa o rossi) interferisce con la misurazione dell'assorbimento e va evitata.³

3. Per rendere provette, pipette, ecc. prive di tracce di ferro, occorre lavarle con acido cloridrico o nitrico caldo e diluito (1:2), e successivamente risciacquarle più volte con acqua deionizzata o distillata priva di ferro.

Materiali in dotazione

1. Reagente R1, tampone per ferro
2. Reagente R2, colorante per ferro

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
2. Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
3. Calibratore chimico Pointe, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico Pointe, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	Ferro	Sostanza chim.:	Ferro
N. chim:	221	Nome etichetta:	Ferro
Tipo reazione:	Endpoint	Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	546 nm	Lungh. d'onda sec.	670 nm
Decimale:	0	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	16 18
Unità:	ug/dl	T. incubazione:	3

Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard; 12	ul	ul	120	ul u
Decremento	ul	ul	20	ul ul
Incremento:	ul	ul	ul	

Intervallo linearità (standard);	500	Limite linearità:	
Intervallo linearità (decremento):		Esaurim. substrato:	
Intervallo linearità (incremento):		Assorb. bianco mix:	- 40000 40000
Assorb. bianco R1:	- 40000 40000	Stabilità in macchina:	30
Giorno/i			
Risposta bianco	- 40000 40000	Limite allarme reagente:	5

Doppia chim.:

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	
Intervallo:	Val. fuori norma:

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	ug/dL	

Tratt. preliminare:			
Vol. campione pretratt.:	ul	Vol. reagente pretratt.:	ul

Intervallo rif.:			
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.: Intervallo critico: Unità:

Kit reagenti Ferro totale Pointe

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.		Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
Ferro		acqua	0,0	W	
Impostazioni calibr.		Cal. chim.	*	*	
Modello mat.: Lineare a 2 punti					
Fattore: Repliche: 2					
Limiti accettabilità					
T. calibr.: 336 h					
Diff. pendenza: DS:					
Sensibilità: Ripetibilità: *Def. utente					
Coeff. deter.:					
Calibr. autom.					
T. calibr.					

Calcoli

A = assorbanza
Std = standard

$$\frac{A_2 \text{ camp.} - A_1 \text{ camp.}}{A_2 \text{ std} - A_1 \text{ std}} \times \text{conc.} = \text{ferro totale (ug/dl)}$$

Esempio: $A_1 \text{ camp.} = 0,08$ $A_2 \text{ camp.} = 0,15$
 $A_1 \text{ std} = 0,00$ $A_2 \text{ Std} = 0,40$

Allora: $\frac{0,15 - 0,08}{0,40 - 0,00} = \frac{0,07}{0,40} \times 500 = 0,175 \times 500 = 87,5 \text{ ug/dl}$

Calibrazione

Utilizzare un calibratore per siero con tracciabilità NIST. La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, sarà necessario effettuare una ricalibrazione.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Valori attesi ⁶

Ferro, totale = 60 – 150 ug/dl

Si raccomanda che ogni laboratorio definisca un intervallo di normalità per la sua specifica popolazione.

Prestazioni

- Linearità: 500 ug/dl
I campioni con valori superiori a 500 U/l andrebbero diluiti 1:1 con soluzione fisiologica, nuovamente analizzati e i risultati andrebbero moltiplicati per 2.
- Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. Si è ottenuto un coefficiente di correlazione di 0,994 e un'equazione di regressione $y = 1,072x - 3,1$.
- Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando un analizzatore Yumizen serie 200.⁷

Intra saggio			Inter-giorn.		
Media	D.S.	C.V.%	Media	D.S.	C.V.%
81,5	3,6	4,4	78,6	2,1	2,7
289,4	6,2	2,1	280,7	5,6	2,0

Riferimenti bibliografici

- Persijn, J.P., et al, Clin. Acta 35:91, (1971).
- Stookey, L.L., Anal. Chem. 42:779, (1970).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 923-929, (1976).
- Weissman, N., Pileggi, V.J., in Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., R.J. Henry et al, editors, Hagerstown (MD), Harper & Row, pp. 692-693, (1974).
- Young, D.S. et al, Clin. Chem. 21:1D, (1975).
- Henry, J.B., Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 1434, (1984).
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	Fabbricante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
Marchio CE	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

12-HI904-144 Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Bruxelles, BELGIO
tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.