

Utilisation prévue

Pour la détermination quantitative du fer dans le sérum à l'aide de l'analyseur Yumizen C560. Uniquement pour diagnostic in vitro.

Historique de la méthode

Le fer existe dans le sérum complexé avec la transferrine, une protéine de transport. La plupart des premières procédures de détermination du fer impliquaient la dissociation du fer du complexe fer-protéine, la précipitation des protéines, puis la mesure de la teneur en fer du filtrat libre de protéines.

De nombreux chromogènes ont été utilisés dans la détermination, y compris le thiocyanate o-phéanthroline, la bathophéanthroline et le TPTZ. En 1971, Persijn et al.¹ ont présenté une méthode utilisant la ferrozine comme chromogène, décrite par Stookey.² Cette méthode ne nécessitait pas de précipitation protéique et était plus sensible que les méthodes précédentes. La présente procédure est une modification de la méthode Persijn.

Principe

Fer sérique : Le fer lié à la transferrine est libéré à un pH acide et réduit des ions ferriques aux ions ferreux. Ces ions réagissent avec la ferrozine pour former un complexe de couleur violette qui est mesuré par spectrophotométrie à 560 nm. L'absorbance mesurée à cette longueur d'onde est proportionnelle à la concentration sérique en fer.

Signification clinique³

Dans la plupart des cas, les valeurs sériques de fer et de TIBC sont nécessaires pour obtenir la plus grande signification diagnostique. De faibles valeurs de fer sérique sont observées dans la perte de sang chronique, l'apport ou l'absorption insuffisant de fer, et une demande accrue sur les réserves du corps (par exemple, la grossesse). Des valeurs élevées de fer sérique sont observées en cas d'augmentation de la destruction des globules rouges, de diminution de la synthèse des globules rouges, d'augmentation de l'apport en fer ou d'une augmentation de la libération des réserves de fer. L'augmentation du TIBC peut être due à une production accrue d'apoferritine (par exemple, carence chronique en fer) ou à une libération accrue de ferritine, comme dans la nécrose hépatocellulaire. Des diminutions du TIBC peuvent survenir avec la cirrhose et l'hémochromatose dues à un déficit en ferritine, ou dans la néphrose due à la perte d'apoferritine.

Réactifs

1. Réactif tampon fer (R1) : Chlorhydrate d'hydroxylamine 220mM dans un tampon d'acétate, pH 4,5 avec tensioactif.
2. Réactif Iron Color (R2) : Ferrozine 3.6mM dans le chlorhydrate d'hydroxylamine.

Précautions et dangers

1. Tous les réactifs sont toxiques. Ne pas pipeter à la bouche. Évitez tout contact.
2. Ce réactif est destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.

Risques :

Tampon : Classifications de danger : corrosion/irritation cutanée (catégorie 2), lésions oculaires/irritations (catégorie 2), toxicité spécifique pour certains organes cibles, exposition répétée ; Sang et système nerveux central (catégorie 1), sensibilisant cutané (catégorie 1), cancérigène (catégorie 2)

Mentions de danger : H315: Provoque une irritation de la peau, H317: Peut provoquer une réaction allergique cutanée, H319: Provoque une irritation oculaire grave, H351 : Soupçonné d'avoir causé la canette.cer H372: Provoque des dommages aux organes lors d'une exposition prolongée ou répétée

Conseils de prudence : **Prévention** : P202 : Ne pas manipuler tant que toutes les précautions de sécurité n'ont pas été lues et comprises. P260: Ne pas respirer de poussière/fumée/gaz/brouillard/vapeur/pulvérisation. P264: Laver soigneusement la peau après manipulation. P270: Ne pas manger, boire ou fumer lorsque vous utilisez ce produit. P272: Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas être autorisés à sortir du lieu de travail.

P280: Porter des gants de protection/vêtements de protection/protection oculaire/protection faciale. **Intervention** : P314 : Consulter un médecin si vous ne vous sentez pas bien. P362: Enlevez les vêtements contaminés et lavez-les avant utilisation. P302 + P352: SI SUR LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon. P305 + P351 + P338: SI DANS LES YEUX: Rincer prudemment à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirez les lentilles cornéennes, si elles sont présentes et faciles à faire. Continuer à rincer. P308 + P313 : SI exposé ou concerné : Consulter un médecin. P332 + P313: EN CAS D'IRRITATION CUTANÉE: Consulter un médecin. P337 + P313: SI l'irritation oculaire persiste: Consulter un médecin.

Stockage : P404: Conserver dans un récipient fermé. **Élimination** : P501 : Éliminer le contenu dans un système d'élimination des déchets approuvé plant.

Couleur : Classification des dangers : sensibilisant cutané (catégorie 1), toxicité spécifique pour certains organes cibles, exposition répétée ; Sang et système nerveux central (catégorie 1), cancérigène (catégorie 2)

Mentions de danger : H317: Peut provoquer une réaction allergique cutanée, H351 Soupçonné de causer le cancer, H372 : Provoque des dommages aux organes lors d'une exposition prolongée ou répétée.

Conseils de prudence : **Prévention** : P202: Ne pas manipuler avant que toutes les précautions de sécurité ont été lues et comprises. P260: Ne pas respirer de poussière/fumée/gaz/brouillard/vapeur/pulvérisation. P264: Laver soigneusement la peau après manipulation. P270: Ne pas manger, boire ou fumer lorsque vous utilisez ce produit. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas être autorisés à sortir de la zone de travail. P280: Porter des gants de protection/vêtements de protection/protection oculaire/protection faciale. **Intervention** : P314: Obtenez des conseils ou des soins médicaux si vous ne vous sentez pas bien. P363 : Laver les vêtements contaminés avant de les réutiliser. P302 + P352: SI SUR LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon. P308 + P313 : SI exposé ou concerné : Consulter un médecin/prendre soin de lui. P333 + 313: EN CAS D'IRRITATION CUTANÉE OU D'ÉRUPTION CUTANÉE: Consulter un médecin/attention. **Stockage** : P404: Conserver dans un contenant fermé. **Disposition** : P501 : Éliminer le contenu dans une usine d'élimination des déchets agréée. **Reportez-vous à la fiche de données de sécurité de ce produit (SDS-HI904).**



Stockage et stabilité des réactifs

Entreposer tous les réactifs réfrigérés entre 2 et 8 °C. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette lorsqu'ils sont stockés conformément aux directives. Des études menées par des fabricants ont montré que le réactif est stable pendant 30 jours une fois placé dans le carrousel de réactifs réfrigérés (2-10 °C), mais la stabilité du réactif peut varier en fonction des conditions du laboratoire.

Détérioration du réactif

Tous les réactifs doivent être clairs. La turbidité peut indiquer une contamination et le réactif ne doit pas être utilisé.

Prélèvement et entreposage des spécimens

1. Le sérum frais et non hémolysé est l'échantillon de choix.
2. Le sérum doit être séparé dès que le caillot s'est formé.
3. Le fer sérique est stable pendant quatre jours à température ambiante (15-30 °C) et sept jours à 2-8 °C.⁴

Interférences

1. Certains médicaments et autres substances sont connus pour influencer les niveaux de fer circulant. Voir Young et coll.⁵.
2. Le fer contenu dans l'hémoglobine ne réagit pas dans cette méthode, par conséquent, une légère hémolyse n'interférera pas. Cependant, l'hémolyse macroscopique (échantillons roses ou rouges) contribuera à l'absorbance mesurée à la longueur d'onde utilisée et doit être évitée.³
3. Pour fabriquer des tubes, des pipettes, etc. sans fer, ils doivent être lavés à l'acide chlorhydrique ou nitrique chaud dilué (1:2), suivi de plusieurs rinçages à l'eau désionisée ou distillée sans fer..

Matériel fourni

1. Réactif Iron Buffer R1
2. Réactif Iron Color R2

Matériel requis mais non fourni

1. Analyseur Yumizen C560
2. Manuel d'utilisation Yumizen C560
3. Calibrant de chimie, numéro de catalogue C7506-50
4. Contrôle chimique, numéro de catalogue C7592-100

Étalonnage

Utilisez un calibrant de sérum traçable par le NIST. La procédure doit être étalonnée conformément aux instructions du fabricant de l'instrument. S'il s'avère que les résultats des contrôles sont en dehors des limites, il peut être nécessaire de recalibrer la méthode. Dans des conditions de fonctionnement typiques, les études de stabilité de l'étalonnage du fabricant ont montré que la courbe d'étalonnage sera stable pendant au moins 14 jours.

Contrôle qualité

Chaque contrôle doit être testé quotidiennement et/ou après chaque calibration. La fréquence des contrôles et les intervalles de confiance doivent être adaptés aux exigences du laboratoire et aux directives spécifiques de votre pays. Pour tester des matériels de contrôle de qualité, vous devez suivre les directives fédérales, nationales et locales. Les résultats doivent être situés entre les limites de confiance définies. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

Valeurs attendues⁶

Fer, total = 60 – 150 ug/dl

Il est fortement recommandé que chaque laboratoire détermine les valeurs normales de sa population particulière.

Performance

1. Gamme de dosage : 2 - 500 $\mu\text{g/dL}$. Les échantillons dont la valeur est supérieure à 500 $\mu\text{g/dL}$ doivent être dilués 1:1 avec une solution saline normale, analysés à nouveau et le résultat multiplié par deux.
2. Comparaison : Une étude a été réalisée entre le Yumizen C560 et un analyseur similaire utilisant cette méthode, ce qui a donné les résultats suivants:

Méthode	Fer
N	93
moyenne Fer ($\mu\text{g/dL}$)	90.2
Plage ($\mu\text{g/dL}$)	0-333
Écart type	71.0
Equation de régression	$y = 0,967x + 9,9$
Coefficient de corrélation	0.9885

3. Précision : Les études de précision ont été réalisées à l'aide de l'analyseur Yumizen C560 respectant les consignes modifiées contenues dans le document EP5-T2 du NCCLS. ⁷

Échantillon	Dans la journée		
	BAS	MOYEN	HAUT
N	20	20	20
Moyenne	80.4	222.2	492.1
Écart type	1.0	1.7	4.0
Coefficient de variation (%)	1.3%	0.8%	0.8%

Échantillon	totale		
	BAS	MOYEN	HAUT
N	40	40	40
Moyenne	75.4	211.4	482.0
Écart type	2.4	8.9	16.9
Coefficient de variation (%)	3.2%	4.2%	3.5%

4. Sensibilité : Limite de Détection 2 EC (95% Int. Conf.) : 2 $\mu\text{g/dL}$

PARAMETRES DE CHIMIE

Chem:	Iron	No.:	221	Sample Type:	Serum
Chemistry:	Iron (Ferrozine)			Print Name:	Iron
Reaction Type:	End Point			Reaction Direction:	Positive
Pri Wave:	546			Sec Wave:	660
Unit:	µg/dL			Decimal:	0
Blank Time:	47 49			Reaction Time:	80 82
	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.	Diluent
Standard:	7.2 ul	--- ul	--- ul	R1:	120 ul --- ul
Decreased:	--- ul	--- ul	--- ul	R2:	24 ul -- ul
Increased:	--- ul	--- ul	--- ul	R3:	--- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Sample Blank	<input checked="" type="checkbox"/> Auto Rerun		R4:	--- ul --- ul
<u>Slope/Offset Adjustment</u>					
Slope: 1		Offset: 0			

Linearity Range (Standard)	2	500	Linearity Limit:
Linearity Range (Decreased)	---	---	Substrate Depletion:
Linearity Range (Increased)	---	---	Mixed Blank Abs:
R1 Blank Abs:	---	---	Uncapping Time
Blank Response:	---	---	Reagent Alarm Limit:
Twin Chemistry:			<input type="checkbox"/> Enzyme Linear Extension
<input type="checkbox"/> Prozone Check		<input type="radio"/> Rate Check	<input type="radio"/> Antigen Addition
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

PARAMETRES DE CALIBRATION

Calibrator Definition						
Calibrator:	*		Lot No.:	*		
Exp Date:	*					
Carousel		Pos				
Sample Carousel 1	*					
Sample Carousel 2						
Sample Carousel 3						
Reagent/Calibration						
<u>Calibrator</u>	<u>Pos</u>	<u>Lot No</u>	<u>Exp Date</u>	<u>Chem</u>	<u>Conc</u>	<u>Unit</u>
Water	W	*	*	FE	0	µg/dL
Chemistry Calibrator	*	*	*	FE	*	µg/dL
Calibration Setup						
Chem:	FE					
<u>Calibration Settings</u>						
Math Model:	Two-Point Linear					
Factor:		Replicates:	2			
<u>Acceptance Limits</u>						
Cal Time:	334	Hour				
Slope Diff:	---	SD:	---			
Sensitivity :	---	Repeatability:	---			
Deter Coeff:	---					
<u>Auto Calib.</u>						
<input type="checkbox"/> Bottle Changed	<input type="checkbox"/> Lot Changed	<input type="checkbox"/> Cal Time				










* Indique un paramètre défini par l'utilisateur.

Il est recommandé que deux niveaux de matériel de contrôle soient analysés quotidiennement..

References

1. Persijn, J.P., et al, Clin. Acta 35:91, (1971).
2. Stookey, L.L., Anal. Chem. 42:779, (1970).
3. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 923-929, (1976).
4. 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).
5. Young, D.S. et al, Clin. Chem. 21:1D, (1975).
6. Henry, J.B., Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 1434, (1984).
7. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Symboles

 Date limite utilisation (AAAA-MM-JJ)  numéro de lot
 Numéro de catalogue  Fabricant
 dispositif médical de diagnostic in vitro  température de conservation
 Consulter le mode d'emploi
 marquage CE  Représentant autorisé dans la Communauté européenne

Fabriqué par HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188




Représentant autorisé européen :
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
1030 Bruxelles, BELGIQUE

Tél : (32)2.732.59.54 Fax : (32)2.732.60.03 Email : mail@obelis.net

Certifié pour la fabrication de réactifs

Les réactifs Pointe sont certifiés pour être fabriqués selon des paramètres spécifiés. Tout produit réactif Pointe ne répondant pas aux spécifications jusqu'à sa date d'expiration indiquée sera remplacé immédiatement sans frais.

 12-HM729-160

 Manufactured by
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Rev. 11/23 P803-HI904-560-FR