

Uso previsto

Determinazione quantitativa del ferro totale nel siero umano utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. **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'assorbanza misurata 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 e pericoli

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

Pericoli:

Tampone: Classificazione dei pericoli: Corrosione/irritazione cutanea (categoria 2), Lesioni/irritazioni oculari (categoria 2), Tossicità specifica per organi bersaglio – esposizione ripetuta: sangue e sistema nervoso centrale (categoria 1), sensibilizzazione cutanea (categoria 1), Cancerogenicità (categoria 2)

Indicazioni di pericolo: H315: Provoca irritazione cutanea, H317: Può provocare una reazione allergica cutanea, H319: Provoca grave irritazione oculare, H351: Sospettato di provocare il cancro, H372: Provoca danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta

Consigli di prudenza: **Prevenzione:** P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze. P260: Evitare di respirare la polvere/fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P264: Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso. P270: Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso. **Reazione:** P314: In caso di malessere, consultare un medico. P362: Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente

P302 + P352: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua. P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. P308+P313: In caso di esposizione o di possibile esposizione: Consultare un medico. P332+P313: In caso di irritazione della pelle: Consultare un medico. P337+P313: Se l'irritazione degli occhi persiste: Consultare un medico. **Conservazione:** P404: Conservare in un recipiente chiuso. **Smaltimento:** P501: Smaltire il prodotto presso un impianto di smaltimento autorizzato.

Colore: Classificazione dei pericoli: Sensibilizzazione cutanea (categoria 1), Tossicità specifica per organi bersaglio – esposizione ripetuta: sangue e sistema nervoso centrale (categoria 1), Cancerogenicità (categoria 2)

Indicazioni di pericolo: H317: Può provocare una reazione allergica cutanea, H351: Sospettato di provocare il cancro, H372: Provoca danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

Consigli di prudenza: **Prevenzione:** P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze. P260: Evitare di respirare la polvere/fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P264: Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso. P270: Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso. **Reazione:** P314: In caso di malessere, consultare un medico. P363: Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. P302+P352: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua. P308+P313: In caso di esposizione o di possibile esposizione: Consultare un medico. P333 + 313: In caso di irritazione o eruzione della PELLE: Consultare un medico. **Conservazione:** P404: Conservare in un recipiente chiuso. **Smaltimento:** P501: Smaltire il prodotto presso un impianto di smaltimento autorizzato. **Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-HI904) disponibile chiamando il 1-734-487-8300.**

Conservazione e stabilità 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. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

Deterioramento dei reagenti

Tutti i reagenti devono essere limpidi. La torbidezza 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.



**Parola segnaletica:
Pericolo**



**Parola segnaletica:
Pericolo**

Kit reagenti Ferro totale Pointe

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'assorbanza misurata 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. Analizzatore Yumizen C560
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
3. Calibratore chimico, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

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, potrebbe essere necessario effettuare una ricalibrazione. Gli studi sulla stabilità della calibrazione condotti dal produttore mostrano che, in condizioni operative classiche, la curva di calibrazione resta stabile per almeno 14 giorni.

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

1. Intervallo di analisi: 2 - 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.
2. Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	Ferro
N	93
Ferro medio (µg/dL)	90,2
Intervallo (µg/dL)	0-333
Deviazione standard	71,0
Analisi di regressione	$y = 0.967x + 9.9$
Coefficiente di correlazione	0,9885

3. Precisione: Gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando l'analizzatore Yumizen C560.⁷

Campione	Intra-gior.		
	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20
Media	80,4	222,2	492,1
Deviazione standard	1,0	1,7	4,0
Coefficiente di variazione (%)	1,3%	0,8%	0,8%

Campione	Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA
N	40	40	40
Media	75,4	211,4	482,0
Deviazione standard	2,4	8,9	16,9
Coefficiente di variazione (%)	3,2%	4,2%	3,5%

4. Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf): 2 µg/dL

Riferimenti bibliografici

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. Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	IRON	N.	221	Tipo campione:	Siero
Denominazione:	Ferro (ferrozina)			Nome etichetta:	IRON
Tipo reazione:	End Point			Direzione reazione:	Positiva
Lungh. d'onda prim.:	546			Lungh. d'onda sec.:	660
Unità:	µg/dL			Decimale	0
T. bianco:	47	49		T. reazione:	80 82
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	7.2 ul	-- ul	-- ul	R1:	120 ul -- ul
Decremento :	-- ul	-- ul	-- ul	R2:	24 ul -- ul
Incremento:	-- ul	-- ul	-- ul	R3:	-- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input checked="" type="checkbox"/> Ripetiz. automat.		R4:	-- ul -- ul
Regolazione pendenza/ Offset					
Pendenza: 1		Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	2	500	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento)	---	---	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento)	---	---	Assorb bianco mix:
Assorb bianco R1:	---	---	T. apertura
Risp. bianco:	---	---	Limite allarme reag.:
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="checkbox"/> Controllo livello	<input type="checkbox"/> Aggiunta antigene
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

Kit reagenti Ferro totale Pointe

PAMETRI DI CALIBRAZIONE

Definizione calibratore						
Calibratore:	*			N. lotto:	*	
Data di scadenza:	*					
Caricatore						
		Pos.				
Caricatore campioni 1		*				
Caricatore campioni 2						
Caricatore campioni 3						
Reagente/calibrazione						
<u>Calibratore</u>	<u>Pos.</u>	<u>N. lotto</u>	<u>Data scad.</u>	<u>Analisi</u>	<u>Conc.</u>	<u>Unità</u>
Acqua	W	*	*	IRON	0	µg/dL
Cal. chim.	*	*	*	IRON	*	µg/dL
Configurazione calibrazione						
Analisi chim.:	IRON					
<u>Impostazioni calibr.</u>						
Modello mat.:	lineare a 2 punti					
Fattore:		Repliche: 2				
<u>Limiti accettabilità</u>						
T. calibr.:	334	h				
Diff. pendenza:	---	DS: ---				
Sensibilità:	---	Ripetibilità: ---				
Coeff. deter.:	---					
<u>Calibr. autom.</u>						
<input type="checkbox"/> Cambio fiasco	<input type="checkbox"/> Cambio lotto	<input type="checkbox"/> Ora cal.				

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-HI904-350



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



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.

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



Legenda



Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)



Codice lotto e gruppo



N. catalogo



Fabbricante



Limitazioni di temperatura



Consultare il manuale di istruzioni