

Réactif du Fer

Méthode de la FerroZine® Liquide

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	Jusqu'à péremption à 2-8 °C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 179 µmol/L (1000 µg/dL)
Nature de l'échantillon	:	Sérum
Méthode	:	Point final
Préparation du réactif	:	Fourni prêt à l'emploi.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

	Représentant Autorisé		Limites de température
	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xi - Irritant
	Réactif A (Tampon)		
	Réactif B (Chromogène)		

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro du fer dans le sérum humain.

INTERET CLINIQUE

Un corps normal contient environ 50 à 70 mmol (3 à 4 g) de fer qui est habituellement lié à une protéine car le fer libre est toxique. Environ 70% du fer total circule lié à l'hémoglobine dans les globules rouges. 25% sont également stockés dans le foie, la rate ou la moelle combinés à la ferritine, composant de stockage du fer. Seulement environ 50 à 70 µmol (3 à 4mg) de tout le fer du corps circule dans le sérum, limité à la protéine transferrine de transport du fer. C'est cette fraction qui est mesurée dans l'évaluation du fer du sérum. Le fer restant est incorporé à la myoglobine, des enzymes et des cytochromes contenant du fer¹. La diminution des concentrations en fer se rencontre chez la plupart des patients, mais pas tous, souffrant d'anémies dues à une déficience en fer et à des troubles inflammatoires chroniques. L'augmentation des concentrations en fer se produit lors de troubles de surcharge en fer tels que, entre autres, l'hémochromatose, l'empoisonnement aigu au fer chez les enfants et l'hépatite².

PRINCIPE DE LA METHODE

Dans un média acide, le fer lié à la transferrine se dissocie en ions ferriques libres. Le chlorhydrate d'hydroxylamine réduit les ions ferriques en ions ferreux qui réagissent avec la Ferrozine pour former un composé pourpre fortement coloré présentant une absorption maximale proche de 560 nm. La différence d'intensité de couleur mesurée à 560 nm, avant et après l'ajout de Ferrozine, est proportionnelle à la concentration en fer de l'échantillon.

À part le fer, le cuivre est le seul métal présent sous forme de traces dans le sérum qui réagit avec la Ferrozine pour former un composé coloré. La néocuproïne est donc également présente dans le réactif coloré pour empêcher l'interférence du cuivre.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

Réactif A : tampon du fer

	Concentration
Chlorhydrate d'hydroxylamine	0,22 mol/L
Agent tensio-actif	
Tampon acétate, pH 4,5 à 25 °C	

Réactif B : Chromogène

Ferrozine	7,8 mmol/L
Chlorhydrate d'hydroxylamine	0,22 mol/L
Néocuproïne	14,4 mmol/L

PRECAUTIONS: Ne pas avaler. Éviter le contact avec la peau ou les yeux. En cas de projection, laver abondamment à l'eau les zones affectées. La fiche de sécurité sur le Réactif du Fer contient des informations plus détaillées.

Réactif A et Réactif B :

R43	Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau.
S24	Éviter le contact avec la peau.
S37	Porter des gants appropriés.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le réactif A et le réactif B sont fournis prêts à l'emploi.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation :

Stocké réfrigéré entre 2 et 8 °C, et protégé de la lumière, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur les étiquettes du flacon et de la boîte du kit.

Une fois le réactif ouvert :

Une fois stockés fermés de 2 à 8 °C, les réactifs sont stables jusqu'à la péremption.

Indications de la détérioration du réactif :

- Turbidité ;
- Présence d'un précipité ; et/ou
- Impossibilité d'obtenir les valeurs de contrôle dans leur fourchette de tolérance.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Collecte: Le sang doit être collecté en utilisant un matériel ne contenant pas de fer (p. ex., seringues, tubes à essai).

Sérum: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Stockage: Les échantillons sont stables pendant au moins 4 jours à la température ambiante (18-25 °C) ou une semaine à 2-8 °C.³

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37 °C), mesurant l'absorbance à 560 nm et acceptant un système de dosage à 2 réactifs.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Serum de contrôle normal et pathologique.
- Étalon ou standard d'Fer aqueux adéquat.
- Eau distillée ou désionisée pour la préparation du réactif et le matériel requis, par ex.: pipettes.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Les paramètres de système suivants sont recommandés. Des applications d'instruments individuelles sont disponibles sur demande auprès du groupe de support technique.

PARAMÈTRES DU SYSTÈME

Température	37 °C
Longueur d'onde	560 nm
Type de dosage	Point final
Direction	Augmentation
Échantillon : taux de réactif	1 : 5
p. ex. : vol. d'échantillon	0,2 mL
Vol. de réactif A	1,0 mL
Temps d'incubation	2 minutes
Vol. de réactif B	0,04 mL
Délai	10 minutes

PROCÉDURE MANUELLE

Les instructions suivantes sont conçues pour une instrumentation manuelle.

1. Repérer un tube à essai ou une cuvette pour un réactif blanc, chaque échantillon étalon, de contrôle et inconnu.
2. Ajouter 1,0 mL de tampon de fer (réactif A) dans chaque tube ou cuvette.
3. Ajouter 0,2 mL d'échantillon (eau, étalon, contrôle, inconnu) dans les tubes ou les cuvettes appropriés, mélanger et laisser incuber pendant au moins 2 minutes.
4. Faire le zéro du spectrophotomètre à 560 nm avec le tube de réactif blanc.
5. Lire et enregistrer l'absorbance de chaque échantillon étalon, de contrôle et inconnu à 560 nm pour obtenir les valeurs de l'échantillon blanc (A1).
6. Ajouter 0,04 mL de chromogène (le réactif B) à tous les tubes, mélanger et laisser incuber pendant 10 minutes.
7. Refaire le zéro du spectrophotomètre par rapport au réactif blanc, une fois du chromogène (réactif B) ajouté.
8. Lire et enregistrer l'absorbance de chaque tube pour obtenir les valeurs de test (A2).
9. Soustraire la valeur de l'échantillon blanc de la valeur du test pour obtenir le Δ d'absorbance (A2 - A1).

CALCULS

Les résultats sont calculés directement par l'analyseur selon la formule suivante:

$$\text{Fer du sérum } (\mu\text{mol/L}) = \frac{\Delta\text{Abs de l'inconnu}}{\Delta\text{Abs de l'étalon}} \times \text{Conc. de l'étalon } (\mu\text{mol/L})$$

REMARQUES

1. Les volumes de réactif et d'échantillon peut être modifié en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
2. La couleur révélée est stable pendant 30 minutes.
3. Les spécimens dont les concentrations en fer sont supérieures à 179 µmol/L (1000 µg/dL) doivent être dilués avec une solution saline et dosés à nouveau. Multiplier les résultats par le facteur de dilution.
4. Bien que la réaction du fer avec la Ferrozine dans le sérum frais soit instantanée, dans certains sérums lyophilisés de contrôle la réaction est retardée et une incubation 10 minutes est recommandée.
5. Conversions des unités : µmol/L x 5,585 = µg/dL.

CALIBRAGE

Le calibrage est obligatoire. Une solution aqueuse étalon ou un étalon à base de sérum, avec une valeur affectée traçable par rapport à un standard primaire (p. ex. NIST or IRMM) sont recommandés. Pour connaître la fréquence de calibrage des analyseurs de biochimie, se référer aux spécifications de la notice de fabrication. Cependant, la stabilité du calibrage est liée aux performances de l'analyseur ainsi qu'à l'utilisation des réactifs conservés dans les conditions décrites dans le paragraphe STABILITÉ ET CONSERVATION de cette notice. Un nouveau calibrage est recommandé, dans les situations suivantes :

- Changement de numéro du lot.
- Maintenance préventive ou remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.
- Les contrôles ne sortent pas à l'intérieur de leur fourchette de tolérance, et l'addition d'un nouveau flacon de contrôle ne peut remédier à ce problème.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Pour garantir un contrôle adéquat de la qualité, des contrôles normaux et anormaux à valeurs dosées doivent être testés comme des échantillons inconnus :

- Au moins toutes les huit heures.
- Si un nouveau flacon de réactif est utilisé.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un composant critique.

Des résultats de contrôle sous la limite supérieure ou sous la limite inférieure des plages établies indiquent un dosage peut-être hors contrôle.

Les actions correctrices suivantes sont prescrites dans ces situations :

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats du contrôle répété sont hors limites, préparer un sérum de contrôle neuf et répétez le test.
- Si des résultats sont toujours hors contrôle, recalibrez avec un étalon neuf, puis répétez le test.
- Si des résultats sont toujours hors contrôle, effectuez un étalonnage avec un réactif neuf, puis répétez le test.
- Si les résultats sont toujours hors limites, contacter les services techniques ou votre distributeur local.

LIMITES DE LA PROCEDURE

1. Des études ont été effectuées pour déterminer le niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine, de la lipémie et de l'acide ascorbique. Les résultats suivants ont été obtenus :

Hémoglobine: Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés.

Bilirubine: Aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 1026 µmol/L (60 mg/dL).

Lipémie: Éviter d'utiliser des échantillons lipémiques.

Acide ascorbique: aucune interférence avec l'acide ascorbique jusqu'à 10 mg/dL.

2. Les publications de Young⁴ et Constantino⁵ examinent plus en détail les facteurs affectant le dosage du fer.

VALEURS ATTENDUES*

Mâles D'Adulte : 12,5 - 32,2 µmol/L (70 - 180 µg/dL)
Femelles D'Adulte : 10,7 - 32,2 µmol/L (60 - 180 µg/dL)

Les valeurs mentionnées sont représentatives de l'éventail des valeurs physiologiques pour cette méthode et de la population testée. Elles ne sont donc données qu'à titre indicatif. Nous recommandons à chaque laboratoire de vérifier ces valeurs et, éventuellement, de redéfinir ses propres valeurs physiologiques.

MESURES

L'imprécision a été obtenue avec le Réactif du Rer Liquide sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs devront établir les caractéristiques de la performance du produit sur leur propre analyseur.

IMPRÉCISION

L'imprécision a été évaluée avec trois niveaux de contrôle du commerce en respectant la procédure NCCLS EP5-T.⁷

	NIVEAU I	NIVEAU II	NIVEAU III
Nombre de points de données	20	20	20
Moyenne (µmol/L)	9,9	40,8	89,0
Moyenne (µg/dL)	55,5	228,0	497,0
CV (%) Dans la session	2,8	1,1	0,4
CV (%) D'un jour à l'autre	5,4	1,4	0,6

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un autre réactif du fer du commerce similaire. Des échantillons de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	51
Plage de mesures des échantillons	5,4 - 64,5 µmol/L (30,0 - 360,0 µg/dL)
Moyenne des mesures (référence)	21,7 µmol/L (121 µg/dL)
Moyenne des résultats de Fer	21,7 µmol/L (121 µg/dL)
Pente	1,003
Coordonnées à l'origine	-0,2 µmol/L (-1,2 µg/dL)
Coefficient de Corrélation	0,9858

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 179 µmol/L (1000 µg/dL).

La linéarité sur les appareils automatiques dépendra du rapport volume de l'échantillon sur volume de réactif utilisé et du temps des mesures. L'application spécifique à l'appareil doit être consultée.


SENSIBILITÉ

S'il est effectué selon les recommandations, la sensibilité du présent dosage est de 3,7 ΔmAbs par µmol/L ou 0,67 ΔmAbs par µg/dL (chemin lumineux de 1 cm, 550 nm).

RÉFÉRENCES

1. Zilva JR, Pannall PR. "Iron Metabolism." Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment (Ed) Lloyd-Luke 1979; Ch18:378-92.
2. Tietz NW "Textbook of Clinical Chemistry 2nd Edition." Tietz NW (Ed) WB Saunders Company Philadelphia 1994; 2059.
3. Henry RJ "Clinical Chemistry: Principles and Techniques", Second Edition (Ed) Harper and Row 1974; 682-95.
4. Young DS, et al. "Effects of Drugs on Clinical Chemistry Laboratory Tests." Clinical Chemistry (Ed) Pestaner L.C. and Gibberman V. 1975; 21:321D.
5. Constantino NV, Kabat HF "Drug Modification of Laboratory Test Values" (Ed) American Journal of Pharm. 1973; 30.
6. Tietz NW "Textbook of Clinical Chemistry." (Ed) WB Saunders Company Philadelphia 1986; 1582.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T.

©2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. @FerroZine is a registered trademark of Hach Company, Loveland, CO. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Information Commandes

REAG A REAG B

TR46101 2 x 125 mL 1 x 14 mL