

Réactif du UIBC

Méthode de la FerroZine® Liquide

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	Jusqu'à péremption à 2-8°C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 89 µmol/L (500 µg/dL)
Nature de l'échantillon	:	Sérum
Méthode	:	Point final
Préparation du réactif	:	Fourni prêt à l'emploi.

UTILISATION PRÉVUE

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

INTERET CLINIQUE

Les mesures de la capacité de liaison au fer insaturé (UIBC, unsaturated Iron-binding capacity) servent à faciliter le diagnostic et le traitement de l'anémie.

PRINCIPE DE LA METHODE

Stokey¹ et Persijn² ont rapporté que la FerroZine, un dérivé sulfoné de la diphényltriiazine, était un réactif spectrophotométrique plus sensible pour le réactif de l'UIBC. La technique évite la précipitation des protéines et minimise l'interférence avec d'autres matériaux sous forme de traces.

Au pH alcalin, un supplément connu d'ions ferreux ajouté au sérum se lie spécifiquement avec les liaisons du fer disponibles de la transferrine, saturant ainsi les molécules avec du fer. La FerroZine réagit alors avec le fer non lié restant pour former un composé pourpre fortement coloré mesuré à 560 nm. The difference between the known excess amount of iron added and the remaining unbound iron is equivalent to the unsaturated iron-binding capacity (UIBC). La capacité de liaison avec le fer total (TIBC, total iron-binding capacity) peut être calculée comme fer de sérum plus UIBC.

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

	Concentration
Réactif B : Chromogène	
Ferrozine	7,8 mmol/L
Chlorhydrate d'hydroxylamine	0,22 mol/L
Néocuproïne	14,4 mmol/L

Réactif C : tampon du UIBC

Tris (hydroxyméthylrique)	0,5 mol/L
Aminométhane, pH 8,1 à 25°C	
Contient également un conservateur et un agent tensio-actif.	

Réactif D : étalon de saturation

Fer	89 µmol/L
(en tant que sulfate ferreux d'ammonium)	(500 µg/dL)
Chlorhydrate d'hydroxylamine	0,72 mol/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 UIBC contient des informations plus détaillées.

Réactif B et Réactif D :

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 B, réactif C et le réactif D 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.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

	Représentant Autorisé		Limites de température
	Utilisation en diagnostic 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 B (Chromogène)		Réactif D (étalon de saturation)
	Réactif C (Tampon)		

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 3 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
Echantillon : taux de réactif	1 : 6
p. ex. :	vol. d'échantillon 0,2 mL
	Vol. de réactif C 1,0 mL
	Vol. de réactif D 0,20 mL
Temps d'incubation	3 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 du tampon de l'UIBC (réactif C) dans chaque tube ou cuvette.
3. Ajouter 0,4 mL d'eau au tube du réactif blanc. Ajouter 0,2 mL d'eau et 0,2 mL d'étalon de saturation (réactif D) au tube de l'étalon. Ajouter 0,2 mL d'échantillon (contrôle, inconnu) et 0,2 mL d'étalon de saturation (réactif D) aux tubes ou cuvettes appropriés, mélanger et laisser incuber pendant 5 minutes.
4. Faire le zéro du spectrophotomètre par rapport au réactif blanc.
5. Lire et enregistrer l'absorbance de chaque tube pour obtenir les blancs d'échantillon (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 de l'UIBC et de la TIBC sont calculés par étapes comme suit :

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

$$\text{UIBC } (\mu\text{mol/L}) = 89 (\mu\text{mol/L fer ajouté}) - \text{excès de fer } (\mu\text{mol/L})$$

$$\text{TIBC } (\mu\text{mol/L}) = \text{fer du sérum } (\mu\text{mol/L}) + \text{UIBC } (\mu\text{mol/L})$$

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. 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.
4. Conversions des unités : $\mu\text{mol/L} \times 5,585 = \mu\text{g/dL}$.

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 $\mu\text{mol/L}$ (60 mg/dL).

Lipémie: Aucune interférence avec la lipémie, mesurée sous la forme des triglycérides, jusqu'à 8,1 mmol/L (710 mg/dL).

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

2. Les publications de Young⁴, Martin⁵ et Constantino⁶ examinent plus en détail les facteurs affectant les dosages de l'UIBC.

VALEURS ATTENDUES⁷

TIBC	Mâles D'Adulte :	44,8 - 80,6 $\mu\text{mol/L}$ (250 - 450 $\mu\text{g/dL}$)
	Femelles D'Adulte :	44,8 - 80,6 $\mu\text{mol/L}$ (250 - 450 $\mu\text{g/dL}$)

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

Les données suivantes ont été obtenues avec le Réactif du UIBC 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 deux niveaux de contrôle du commerce en respectant la procédure NCCLS EP5-T.⁸

	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre d'échantillons	20	20
Moyenne ($\mu\text{mol/L}$)	34,3	56,2
Moyenne ($\mu\text{g/dL}$)	191,7	313,7
CV (%) Dans la session	1,0	0,7
CV (%) D'un jour à l'autre	1,8	5,0

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un autre réactif du UIBC 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	50
Plage de mesures des échantillons	24,7 - 86,3 $\mu\text{mol/L}$ (138 - 482 $\mu\text{g/dL}$)
Moyenne des mesures (référence)	51 $\mu\text{mol/L}$ (284 $\mu\text{g/dL}$)
Moyenne des résultats de UIBC	50 $\mu\text{mol/L}$ (281 $\mu\text{g/dL}$)
Pente	1,003
Coordonnées à l'origine	-0,7 $\mu\text{mol/L}$ (-3,7 $\mu\text{g/dL}$)
Coefficient de Corrélation	0,9698

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 89 $\mu\text{mol/L}$ (500 $\mu\text{g/dL}$).

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 3,4 ΔmAbs par $\mu\text{mol/L}$ ou 0,61 ΔmAbs par $\mu\text{g/dL}$ (chemin lumineux de 1 cm, 550 nm).

RÉFÉRENCES

1. Stookey LL "Ferrozine - A new spectrophotometer reagent for iron." Anal Chem 1970; 42:779.
2. Persijn JP, Van Der Silk W, and Riethorst A "Determination of Serum Iron and Latent Iron-Binding Capacity (LIBC)" Clin Chem Acta 1971; 35:91.
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 Laboratory Tests." Clin Chem 1975; 21:1.
5. Martin EW "Hazard of Medication" (Ed) Alexander SF, Farage DJ and Hassan WE, Jr. Philadelphia, PA and Toronto, Canada, JB Lippincott Company 1971, 169-189.
6. Constantino NV and Kabat HF "Drug Induced Modification of Laboratory Test Values" (Ed) American J. Hosp. Pharm. 1973, 31:24.
7. Tietz NW "Textbook of Clinical Chemistry." (Ed) WB Saunders Company Philadelphia 1986; 1833.
8. 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 B REAG C REAG D

TR46201 1 x 14 mL 2 x 125 mL 1 x 50 mL