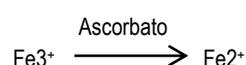
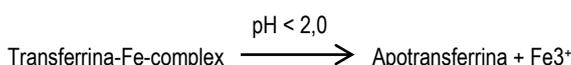


Determinazione quantitativa del Ferro nel siero o plasma. Metodo colorimetrico alla Ferrozine®

REF CC1230 R1:3x40 mL + R2: 1x30 mL + R3: 1x3mL (standard)

PRINCIPIO DEL METODO

In ambiente acido, il Ferro si libera dalla Transferrina, sua proteina carrier, sotto forma di ione Ferro trivalente (Fe^{3+}) e viene ridotto a ione Ferro bi-valente (Fe^{2+}) dall'Ascorbato. Lo ione bi-valente reagisce con la Ferrozine® formando un complesso colorato. L'intensità di colore che si sviluppa, misurata fotometrica alla lunghezza d'onda di 578 nm, è direttamente proporzionale alla quantità di Ferro totale presente nel campione in esame.



SIGNIFICATO CLINICO

Il Ferro viene assorbito prevalentemente a livello del duodeno e della parte prossimale del digiuno. Negli alimenti esso si trova prevalentemente sotto forma di sale ferrico (Fe^{3+}). L'assorbimento del ferro è favorito dall'ambiente acido gastrico. Ogni giorno con la dieta vengono introdotti circa 10-20 mg di ferro e di questi ne viene assorbito circa il 10%. Una dieta ricca di carne rappresenta una straordinaria fonte di approvvigionamento. Il Ferro è essenziale per la vita essendo implicato nell'organismo in numerosissime reazioni biochimiche. Quando si complessa con la porfirina forma l'eme, un gruppo prostetico che entra a far parte di numerose proteine, dalla emoglobina ai citocromi.

Una bassa sideremia si può riscontrare in diverse situazioni: apporto alimentare di ferro carente (malnutrizione, diete non bilanciate), cattivo assorbimento del ferro presente nella dieta a livello intestinale (morbo celiaco, diarrea cronica, abuso di lassativi, alcolismo, malassorbimento, gastrectomia, acloridria), aumentato utilizzo del ferro (rapida crescita, nel neonato od adolescente), perdite fisiologiche di ferro (mestruazioni, gravidanza), perdite patologiche di ferro (emorragie gastrointestinali o genitourinarie).

Una sideremia elevata può verificarsi per somministrazione eccessiva di ferro (trasfusioni multiple), emocromatosi ed emosiderosi, scarsa utilizzazione del ferro a livello midollare (anemie aplastiche, ipoplastiche e megaloblastiche), distruzione cellulare degli organi di deposito del ferro (epatite virale), avvelenamento da piombo.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente R1:

Acido Citrico, pH 1.8	200 mmol/L
Thiourea	115 mmol/L
Sodio Ascorbato	150 mmol/L
Detergenti	< 1 %

Reagente R2:

Acido Citrico, pH 1.8	200 mmol/L
Ferrozina®	6 mmol/L
Detergenti	< 1 %

Reagente R3:

Standard (Ferro)	valore in etichetta
------------------	---------------------

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti. Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero o plasma da eparina. Evitare EDTA ed Ossalato che possono causare una diminuzione dei valori.

Separare il siero / plasma dalla massa eritrocitaria entro 2 ore dal prelievo per minimizzare l'effetto dell'emolisi spontanea sul campione in esame.

Stabilità: 7 giorni a 2 - 8 °C ; 4 giorni a 15 - 25 °C

Scartare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 578 nm (546 – 600 nm)

Temperatura: 37° C

Misura: contro acqua distillata

Pipettare come segue:

Reagente R1	800 µL
Campione / Calibratore	100 µL

Miscelare, incubare 5 minuti, leggere l'Assorbanza (Abs 1) e aggiungere:

Reagente R2	200 µL
-------------	--------

Miscelare. Incubare 5 minuti e leggere ancora l'Assorbanza (Abs 2).

Calcolare Δ Abs (Abs2 – Abs1) per calibratore e campioni.

CALCOLO

Δ Abs Campione

Ferro = $\frac{\Delta \text{ Abs Campione}}{\Delta \text{ Abs Calibratore}} \times \text{Concentrazione Calibratore / Standard}$

Fattore Conversione: Ferro [$\mu\text{g/dL}$] x 0.1791 = [$\mu\text{mol/L}$]

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa allo standard accluso alla confezione, è possibile utilizzare il Calibratore di **MTD Diagnostics**:

Chemistry Multicalibratore - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di **MTD Diagnostics**:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

	µg/dL	µmol/L
Bambini		
2 settimane	63-201	11-36
6 mesi	28-135	5-24
12 mesi	35-155	6-28
2 –12 anni	22-135	4-24
Donne		
25 anni	37-165	6.6-29.5
40 anni	23-134	4.1-24.0
60 anni	39-149	7.0-26.7
Donne Gravidie		
12ma settimana	42-177	7.6-31.6
A termine	25-137	4.5-24.5
6 settimane post partum	16-150	2.9-26.9
Uomini		
25 anni	40-155	7.2-27.7
40 anni	35-168	6.3-30.1
60 anni	40-120	7.2-21.5

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 120,97; D.S. = 2,36; CV = 1,95%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 191,58; D.S. = 3,02; CV = 1,58%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1,001 x - 0.493 \quad ; \quad r = 0.997$$

SENSIBILITA': 5,0 µg/dL

LINEARITA': 5,0 – 500,0 µg/dL

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza osservata con presenza nei campioni di Bilirubina fino a 60 mg/dL, Trigliceridi fino a 2000 mg/dL, di Emoglobina fino a 100 mg/dL, Rame fino a 200 µg/dL e Zinco fino a 400 µg/dL.

NOTE

- Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere convalidata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di convalidare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.
- La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.
- © Trade mark di Hach Chemical Co. Ames, Iowa.

PRECAUZIONI

R1 e R2 contengono:

ACIDO CITRICO 200 mmol/L – pH 1.8 - CAS. N. 77-92-9 - Xi

R35 (H314): Provoca gravi ustioni.

R36/37/38 (H319 – H335 – H315): Irritante per gli occhi, le vie respiratorie e la pelle.

Il prodotto contiene sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP), pertanto, esso necessita la etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Zilva JR, Pannall PR. "Iron Metabolism." Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment (Ed) Lloyd-Luke 1979; Ch18:378-92.

Tietz NW "Textbook of Clinical Chemistry 2nd Edition." Tietz NW (Ed) WBSaunders Company Philadelphia 1994; 2059.

Henry RJ "Clinical Chemistry: Principles and Techniques", Second Edition (Ed) Harper and Row 1974; 682-95.

Young DS, et al. "Effects of Drugs on Clinical Chemistry Laboratory Tests." Clinical Chemistry (Ed) Pestaner L.C. and Gibberman V. 1975; 21:321D.

Constantino NV, Kabat HF "Drug Modification of Laboratory Test Values" (Ed) American Journal of Pharm. 1973; 30.

Tietz NW "Textbook of Clinical Chemistry." (Ed) WB Saunders Company Philadelphia 1986; 1582.