

## FERRO (Fe)

Os frascos em forma de cunha contêm volumes úteis de 19 mL do reagente R1 e 5 mL do reagente R2.

## INDICAÇÃO DE USO

O reagente para ferro EasyRA é destinado à medição quantitativa do ferro (Fe) no soro humano, usando o Analisador Químico EasyRA MEDICA em laboratórios clínicos. As medições de ferro são usadas para diagnóstico e tratamento de anemias por deficiência de ferro, hemocromatose e doença renal crônica.

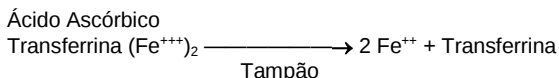
Para uso somente em diagnósticos *in vitro*.

## RESUMO E EXPLICAÇÃO

O Ferro (Fe) é um metal necessário para a síntese de hemoglobina e para a atividade de diversas enzimas e coenzimas celulares. As medições de ferro são utilizadas para diagnóstico e tratamento de anemias, distúrbios inflamatórios crônicos, hepatite e envenenamento plúmbeo.<sup>1</sup> No soro, o ferro é transportado ligado à proteína transferrina. A medição do ferro sérico é realizada por meio da liberação do ferro ligado à proteína carregadora e da complexação do ferro liberado com um composto quelante que pode ser medido por espectrofotometria.

## PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O primeiro método fotométrico descrito por Stookey<sup>2</sup> envolve a reação do ferro ferroso livre para formar um complexo tris de ferrozina/ferro (Fe(FZ)<sub>3</sub>). O procedimento de teste Medica utiliza um composto chamado 5,5'-(3-(2-piridil)-1,2,4 triazina-5,6 diil)bis-2-ácido furansulfônico, dissódico (Ferene)<sup>®</sup> que já está comercialmente disponível pronto.<sup>3, 4, 5</sup> O Ferene<sup>®</sup> é um agente quelante do ferro que forma um complexo tris com íons ferrosos, tem absorvidade molar mais alta que a da ferrozina e é altamente solúvel e estável em pH de 4-9. Em meio ácido, o ferro ligado à proteína carregadora transferrina dissocia-se em íons férricos, que são então reduzidos em íons ferrosos na presença de ácido ascórbico:



Os íons ferrosos então reagem com o cromogênio Ferene<sup>®</sup> para formar um pigmento azul:



A absorbância deste complexo azulado medida a 600 nm é proporcional à concentração de ferro na amostra.

## REAGENTES

### Reagente para Dissociação Ácida (R1):

|                         |               |
|-------------------------|---------------|
| Tampão Acetato (pH 4,5) | > 0,63 mmol/L |
| Ácido Ascórbico         | > 38,0 mmol/L |

### Reagente de Cor para Fe (R2):

|                     |                |
|---------------------|----------------|
| Ferene <sup>®</sup> | > 0,964 mmol/L |
|---------------------|----------------|

Tensoativo, conservantes e estabilizadores.

## Precauções

1. As boas práticas de segurança em laboratórios devem ser seguidas para o manuseio de qualquer reagente (NCCLS, GP17-A2).
2. O reagente contém menos de 0,1% de azida de sódio, que pode reagir com tubulações de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Consulte a Folha de Informações sobre Segurança para informações sobre riscos e medidas de segurança.
3. Como para qualquer procedimento de teste de diagnóstico, os resultados devem ser interpretados considerando-se os resultados de outros testes e o estado clínico do paciente.
4. Não utilize cubetas lavadas.

## Instruções de Manuseio, Armazenagem e Estabilidade do Reagente

O reagente é fornecido pronto para o uso. O reagente permanecerá estável em frasco fechado até a data de validade informada no rótulo desde que armazenado a 2-8 °C. O reagente permanece estável a bordo na área refrigerada de reagentes do Analisador Químico EasyRA Medica pelo número de dias programado no chip RFID encontrado no frasco. Se o analisador não oferecer a opção de refrigeração, a tampa deverá ser recolocada após o uso, e os reagentes deverão ser armazenados a 2-8 °C. Não utilize o reagente se estiver turvo ou opaco ou se os valores conhecidos para controle de soro não forem obtidos.

### Coleta e Armazenagem/Estabilidade da Amostra

Soro não hemolisado e límpido deve ser utilizado. Centrifugue e remova o soro assim que possível após a coleta. O ferro permanece estável no soro por 4 dias a 18-25 °C ou 7 dias a 2-8 °C.<sup>7</sup>

### Limitações e Interferência de Aditivos no Tubo de Coleta

Utilize para a coleta de sangue somente tubos e seringas que não tenham ferro em sua constituição.

## PROCEDIMENTO

### Materiais Fornecidos

Frasco de Reagente para Fe Medica, REF 10223

### Materiais adicionais necessários

Calibrador EasyCal Medica para Química, REF 10651

Controle de Qualidade EasyCQ Medica – Nível A – Química/Eletrólitos, REF 10793

Controle de Qualidade EasyCQ Medica – Nível B – Química/Eletrólitos, REF 10794

Frasco de Corante Medica para Teste de Precisão, REF 10764

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química e ISE, REF 10660 ou

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química, REF 10661

### Instruções de Uso

O reagente é fornecido pronto para o uso. Remova a tampa e coloque o reagente na bandeja do Analisador Químico EasyRA Medica, localizada na área reservada para reagentes. A estabilidade a bordo (26 dias no máximo) encontra-se programada no chip RFID do frasco do reagente.

**Observação: Após remover a tampa e colocar o frasco no analisador, verifique se há espuma no interior dos gargalos do frasco.** Se houver espuma, remova com um swab ou com uma pipeta descartável antes de executar o teste. Utilize swabs ou pipetas descartáveis separadas para R1 e R2.

### Calibração

O produto EasyCal Medica para Química, REF 10651, é recomendado para calibração deste tipo de análise. O intervalo de calibração (26 dias no máximo) encontra-se programado no chip RFID do frasco do reagente. A recalibração é necessária quando houver mudança do número de lote de reagente ou alteração dos valores de controle de qualidade.

### Controle de Qualidade

Recomenda-se a execução de dois níveis (normal e anormal) de controle baseado em soro humano junto com a análise, pelo menos uma vez a cada 8 horas e a cada troca de lote de reagente. A não obtenção de valores dentro do intervalo adequado a partir da análise do material de controle pode indicar deterioração do reagente, mau funcionamento do instrumento ou erros de procedimento. O laboratório também deve seguir as diretrizes municipais, estaduais e federais de controle de qualidade ao usar materiais de controle de qualidade.

### Resultados

Após a conclusão da análise, o Analisador Químico EasyRA Medica calcula a concentração de ferro a partir da razão entre a absorbância corrigida (subtraindo-se a absorbância do branco de reagente e do branco de amostra) da amostra e a absorbância paralelamente corrigida do calibrador (após a subtração da absorbância do branco de reagente e do branco de amostra), multiplicada pela concentração do calibrador.

$$\text{Fe } (\mu\text{g/dL}) = \frac{[(A_{U_{600}} - A_{RBlk_{600}})] - [(A_{U_{600}} - A_{RBlk_{600}})]_{SBlk} \times dF}{[(A_{C_{600}} - A_{RBlk_{600}})] - [(A_{C_{600}} - A_{RBlk_{600}})]_{SBlk} \times dF} \times \text{Valor Cal}$$

Em que  $A_U$  é a absorbância da amostra desconhecida,  $A_{RBlk}$  é a absorbância do branco de reagente associada à amostra desconhecida e  $SBlk$  é o branco de reagente associado à amostra desconhecida. Todas as absorbâncias com "C" subscrito são associadas ao calibrador. A adição com retardo do reagente R2 causa a necessidade de um fator de correção de diluição (dF) a ser incluído no cálculo.

### Valores Esperados <sup>8</sup>

O intervalo de referência para ferro em soro é o seguinte:

Sexo Masculino: 65-170  $\mu\text{g/dL}$

Sexo Feminino: 50-170  $\mu\text{g/dL}$

As concentrações de ferro no soro apresentam variações diárias com picos nas primeiras horas da manhã.

Esses valores são sugeridos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados, considerando-se as diferenças entre os instrumentos, as instalações laboratoriais e as populações locais.

#### **Limitações do Procedimento (por exemplo, amostra ultrapassa o intervalo do exame)**

Devem ser usadas apenas amostras de soro não hemolisado.

O Analisador Químico EasyRA Medica sinaliza qualquer resultado acima de 750 µg/dL como Linearidade Alta "LH". Se o ícone de novo teste for selecionado pelo operador, a amostra poderá ser testada novamente usando metade (1/2) do volume da amostra. Os resultados do novo teste são calculados para refletir o uso de um volume menor da amostra. Isso deve estender o intervalo reportável do teste de ferro até 1500 µg/dL.

#### **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO<sup>9</sup>**

##### **Intervalo reportável**

O intervalo reportável é de 4 a 750 µg/dL. O intervalo estendido vai de 4 a 1500 µg/dL quando metade da amostra é usada (diluição 1:1).

##### **Inexatidão/Correlação (NCCLS, EP9-A2)**

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação do desempenho do Reagente para Ferro Medica (y) no Analisador Químico EasyRA Medica com o desempenho de um reagente para ferro similar (x) no Analisador COBAS MIRA da Roche. Os dados mostrados abaixo representam determinações avulsas do Analisador Químico EasyRA Medica em comparação com a média entre 2 valores replicados obtidos no Analisador MIRAS COBAS da Roche.

|                            |        |                       |                               |
|----------------------------|--------|-----------------------|-------------------------------|
| Número de amostras         | 48     | Intervalo de amostras | 4 a 742 µg/dL                 |
| Declive                    | 1,0849 | Intercept y           | 1,0616                        |
| Coefficiente de Correlação | 0,9986 | Equação de regressão: | $Y = 1,0849 \cdot X - 1,0616$ |

##### **Imprecisão (NCCLS, EP5-A2)**

Medições duplicadas de cada um dos três níveis do material de CQ foram testadas duas vezes ao dia, por 20 dias. Tanto a precisão durante a rodada quanto a precisão total foram determinadas a partir desses dados.

Imprecisão em uma mesma rodada:

| Nível de CQ<br>µg/dL | SD na Rodada<br>µg/dL | CV na Rodada<br>% |
|----------------------|-----------------------|-------------------|
| 181                  | 1,2                   | 0,7               |
| 107                  | 0,8                   | 0,8               |
| 70                   | 1,0                   | 1,4               |

Imprecisão Total:

| Nível de CQ<br>µg/dL | SD de Imprecisão Total<br>µg/dL | CV de Imprecisão Total<br>% |
|----------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| 181                  | 2,9                             | 1,6                         |
| 107                  | 1,8                             | 1,7                         |
| 70                   | 1,3                             | 1,8                         |

##### **Linearidade (NCCLS, EP6-A)**

Linear de 4 a 750 µg/dL, com base na regressão linear  $Y = 1,0125 \cdot X + 0,2697$ .

|                                |            |                            |
|--------------------------------|------------|----------------------------|
| Limite de branco (LOB):        | 0,09 µg/dL | (NCCLS, EP17-A)            |
| Limite de detecção (LOD):      | 1,27 µg/dL | (NCCLS, EP17-A)            |
| Limite de quantificação (LoQ): | 4,00 µg/dL | (NCCLS Modificado, EP17-A) |

##### **Substâncias Interferentes (NCCLS, EP7-A)**

Interferência de até 10% foi classificada como "nenhuma interferência significativa".

Há interferência significativa em níveis de hemoglobina acima de 30 mg/dL. Não utilize amostras hemolisadas.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 25 mg/dL de bilirrubina.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 1200 mg/dL de triglicérides (utilizando-se Intralipid\*).

\*Intralipid é uma marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornece uma lista de medicamentos e outras substâncias que podem interferir nos testes clínicos químicos.<sup>10, 11</sup>

## REFERÊNCIAS

1. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo (1994). p 2062.
2. Stookey, L.L., Ferrozine – A New Spectrophotometric Reagent for Iron. *Anal. Chem.* 42: 779 (1970).
3. Artiss, J.D., Vinogradov, S., Zak, B., Spectrometric Study of Several Sensitive Reagents for Serum Iron, *Clin. Biochem.* 14: 311-315 (1981).
4. Higgins, T., Novel Chromogen for Serum Iron Determinations, *Clin. Chem.* 27: 1619 (1981).
5. Artiss, J.D., Strandbergh, D.R., Zak, B., Study of Continuous Flow Automation for Serum iron on Comparing Several Sensitive Reagents. *Microchemical Journal*, 28: 275-284 (1983).
6. Ferene®; Registered Trademark of Diagnostic Chemicals Limited.
7. Weissman, N., Pileggi, VJ, In *Clinical Chemistry – Principles and Technics*, 2nd ed, R.J. Henry, D.C. Cannon, J.W. Winkelman, Editors, Harper & Roe, Hagerstown, Md, (1974) pp 684, 685, 695.
8. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo (1994) p 2195.
9. Dados arquivados na Medica.
10. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
11. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2<sup>nd</sup> ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

## Parâmetros de Análise do EasyRA (Fe)

|                                     |                             |
|-------------------------------------|-----------------------------|
| Comprimento de onda primário (nm)   | 600                         |
| Comprimento de onda secundário (nm) | 700                         |
| Tipo de Reação                      | Endpoint (2)                |
| Direção de Reação                   | Crescente                   |
| Branco de Reagente                  | Duplo (com cada calibração) |
| Branco de Amostra                   | Sim                         |
| Tempo de Reação                     | 6 min                       |
| Intervalo de calibração (máximo)    | 26 dias                     |
| Estabilidade a bordo do reagente    | 26 dias                     |

## Soro

|                                                         |               |
|---------------------------------------------------------|---------------|
| Volume de amostra (µl)                                  | 20            |
| Volume do diluente 1 (µl)                               | 10            |
| Volume do diluente 2 (µl)                               | 10            |
| Volume do reagente R1 (µl)                              | 150           |
| Volume do reagente R2 (µl)                              | 30            |
| Casas Decimais (valores padrão)                         | 0             |
| Unidades (valores padrão)                               | µg/dL         |
| Fator de Diluição para extensão de intervalo de medição | 1:1           |
| Linearidade                                             | 4 a 750 µg/dL |