

# MEDICA

REF 10223-4 4 x 19 mL/5 mL

## 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.

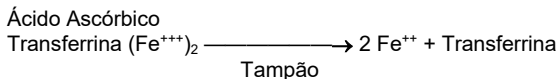
Para uso somente em diagnósticos *in vitro*.

### 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 absorvância 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.

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

Em que  $A_U$  é a absorbância da amostra desconhecida,  $A_{R_{Bik}}$  é a absorbância do branco de reagente associada à amostra desconhecida e  $S_{Bik}$  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:	$Y = 1,0849 * X - 1,0616$

##### **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 µg/dL	SD na Rodada µg/dL	CV na Rodada %
181	1,2	0,7
107	0,8	0,8
70	1,0	1,4

Imprecisão Total:

Nível de CQ µg/dL	SD de Imprecisão Total µg/dL	CV de Imprecisão Total %
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  $Y = 1,0125 * X + 0,2697$ .

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\*).

Amostras de pacientes com macroglobulinemia de Waldenstrom têm alto potencial de interferência e podem gerar resultados não confiáveis.

<sup>9</sup>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 or 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 or 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