FERRO

MÉTODO:
Ferrozine.

FINALIDADE:
Kit de reagentes diagnóstico para determinação quantitativa de ferro no soro ou plasma heparinizado em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
O ferro é o micromineral mais abundante nos organismos. A maior parte do ferro em humanos está associada ao grupo heme (ferro heme), presente na hemoglobina e mioglobina, além das enzimas catalase e peroxidase, e nos citocromos. O ferro é ingerido e absorvido principalmente na forma de Fe^{2+} no duodeno e no jejuno superior sendo que cerca de 1 mg de ferro é assimilado diariamente. Ao alcançar as células da mucosa intestinal e antes de passar para o plasma, o Fe^{2+} é oxidado pela ceruloplasmina a Fe^{3+} e ligados à transferrina, formando o complexo ferro-transferrina responsável pelo transporte de ferro no plasma sanguíneo. O ferro sérico está quase totalmente ligado à transferrina. As medições do ferro sérico, ou seja, não ligado ao grupo heme, são usadas no diagnóstico e tratamento de doenças como anemia ferropriva, hemocromatose e doença renal crônica. As determinações de ferro são realizadas para o diagnóstico e monitoramento de anemia microcítica, anemia, bem como anemias normocíticas como a renal e hemolítica, hemoglobinopatia, doença da medula óssea e lesão tóxica da medula óssea.

FUNDAMENTO:
O método utiliza a ferrozina, sem desproteinização. Os íons Fe^{3+} ligados à transferrina são liberados em condições ácidas e reduzidos à Fe^{2+} pelo ânion ascorbato na presença de detergentes. As amostras lipêmicas são clarificadas por esses detergentes. Os íons Fe^{2+} formados reagem com Ferrozine para formar um complexo colorido, enquanto íons Cu^{2+}, que também podem se ligar à Ferrozine, são captados pela tioureia. A intensidade da cor é diretamente proporcional à concentração de ferro presente na amostra e pode ser medida fotometricamente na reação de Goodwin modificada.

$$Fe^{3+}\text{-}Transferrina \xrightarrow{Ascorbato} Fe^{2+}$$

$$Fe^{2+} + Ferrozine \rightarrow Fe^{2+}\text{-}Ferrozine$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Ácido cítrico, pH 1,8	≥200	mmol/L
Tioureia	≥115	mmolL
Ascorbato de sódio	≥150	mmol/L
Detergente	<10	g/L
R2:		
Ácido cítrico, pH 6,4	≥200	mmol/L
FerroZine	≥6	mmol/L
Detergente/estabilizante	<10	g/L

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para o uso e não dependem de preparo.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados de 2 a 8 °C.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 60 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:

- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:

- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 28 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade do ferro no soro livre de hemólise ou plasma (heparina) é de 4 dias entre 20 e 25 °C, 7 dias entre 2 e 8 °C e um ano a -20 °C. Amostras coletadas em tubos com EDTA e oxalato podem apresentar resultados falsamente diminuídos.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Bilirrubina	80 mg/dL
Hemoglobina	70 mg/dL
Triglicérides	1000 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 578 nm (540 a 580 nm)
Temperatura: 37 °C
Tipo de reação: Ponto final crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	**Tubos ou cubetas**		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	80 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	80 µL	---
Amostra	---	---	80 µL
Homogeneizar bem e incubar por 1 minuto a 37 °C, então adicionar:			
R2	200 µL	200 µL	200 µL

2- Homogeneizar bem, incubar por 1 minuto a 37 °C
3- Ler absorbância 1 do Calibrador/Padrão e da amostra contra Branco (ΔAbs1) a 578 nm (5400 a 580 nm)
4- Incubar por 2 minutos e ler novamente a absorbância (ΔAbs2), respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância inicial

D-Cálculo com padrão:
$\Delta Abs = \Delta Abs1 - \Delta Abs2$

$$Ferro\ (\mu g/dL) = \frac{\Delta Abs_{\ Amostra}}{\Delta Abs_{\ Padrão}} \times Concentração\ do\ Calibrador/Padrão$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{\ Amostra}$: 0,091
$\Delta Abs_{\ Padrão}$: 0,103
Concentração do Padrão/Calibrador: 102 µg/dL

$$Ferro\ (\mu g/dL) = \frac{0,091}{0,103} \times 102\ \mu g/dL$$

Ferro (µg/dL) = **90 µg/dL**

E-Cálculo com fator:
Pela Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser aplicado:

$$Fator\ de\ calibração = \frac{Concentração\ do\ Padrão}{Absorbância\ do\ Padrão}$$

FERRO

Ferro (µg/dL) = $\Delta Abs_{Amostra}$ × Fator de calibração

Exemplo:

Fator de calibração = $\frac{102\ \mu g/dL}{0,103}$

Fator de calibração = 990,3
Ferro (µg/dL) = 0,091 × 990,3
Ferro (µg/dL) = **90 µg/dL**

VALORES DE REFERÊNCIA:

Recém-nascido	100 – 200 µg/dL	(17,9 – 35,8 µmol/L)
Lactente	40 – 100 µg/dL	(7,16 – 17,9 µmol/L)
Criança	50 – 120 µg/dL	(9,0 – 21,5 µmol/L)
Adulto - Homem	65 – 170 µg/dL	(11,6 – 30,4 µmol/L)
Adulto - Mulher	50 – 170 µg/dL	(9,0 – 30,4 µmol/L)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 µg/dL = 0,179 µmol/L.

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 1000 µg/dL (179 µmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 1,5 µg/dL (0,269 µmol/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25*	Média (µg/dL)	Desvio padrão (µg/dL)	CV%
Amostra 1	56,2	1,741	3,10
Amostra 2	222,3	2,177	0,98
Amostra 3	435,1	2,240	0,51

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25*	Média (µg/dL)	Desvio padrão (µg/dL)	CV%
Amostra 1	54,0	1,836	3,40
Amostra 2	224,9	3,904	1,74
Amostra 3	424,9	4,318	1,02

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 80 amostras comparando-se o reagente FERRO (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 0,997x + 1,718$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9970

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO R1	CONTEÚDO R2
FERRO (Universal)	VYT010307194EN	120 mL	5 x 20 mL	2 x 10 mL
FERRO (BM SERIES I)	VYT010308653EN	96 mL	2 x 40 mL	2 x 8 mL
FERRO (BM SERIES III)	VYT010307451EN	120 mL	2 x 50 mL	2 x 10 mL

ANVISA: 81692610184

BIBLIOGRAFIA:

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier (Saunders), 2015.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997.
7. Siedel J, Wahlefeld AW, Ziegenhorn J. Clin Chem; 30:975, 1984.
8. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
9. Kenny D et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:585, 1999.
10. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:
Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:


Data de Fabricação


Data de Validade


Limite de Temperatura



Código do Produto


Consultar Instruções de Uso



Número do Lote



Produto para Diagnóstico In Vitro