

Ferritin

Ferritina

03737551 190

100 testes

cobas

Português

Função

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da ferritina em soro e plasma humanos.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características

A ferritina é uma macromolécula com um peso molecular de, pelo menos, 440 kD (consoante o teor de ferro), e é constituída por um invólucro proteico (apoferritina) com 24 subunidades e um núcleo de ferro que contém uma média de cerca de 2500 iões Fe^{3+} (em ferritina do fígado e do baço).¹

A ferritina tende a formar oligómeros, e quando está presente em excesso nas células dos órgãos de armazenamento, regista-se uma tendência para que ocorra a condensação em hemosiderina semicristalina nos lisossomas.

Podem ser distinguidas pelo menos 20 isoferritinas com o auxílio de focagem eléctrica.² Esta micro-heterogeneidade deve-se a diferenças de teor das subunidades H ácida e L fracamente básica. As isoferritinas básicas são responsáveis pela função de armazenamento a longo prazo do ferro e são sobretudo detectáveis no fígado, baço e na medula óssea.^{1,3}

As isoferritinas ácidas encontram-se principalmente nos tecidos do miocárdio, da placenta e tumorais. Têm um teor de ferro mais baixo e funcionam, presumivelmente, como intermediárias da transferência de ferro em várias sínteses.^{4,5,6}

A determinação da ferritina é um método adequado para determinar a situação metabólica do ferro. A determinação da ferritina no início da terapêutica fornece uma medida representativa das reservas de ferro presentes no organismo. É possível detectar uma deficiência de armazenamento no sistema reticulo-endotelial (RES) numa fase muito inicial.⁷

Clinicamente, provou-se ser útil um valor limite de 20 $\mu g/l$ (20 ng/ml) na detecção de uma deficiência de ferro pré-latente. Este valor constitui uma indicação fiável do esgotamento das reservas de ferro que podem ser mobilizadas para a síntese da hemoglobina. Segundo a definição, estamos perante uma deficiência de ferro quando se regista uma queda para valores abaixo do limiar de 12 $\mu g/l$ (12 ng/ml) de ferritina. Estes dois valores não requerem mais nenhuma elucidação laboratorial, nem mesmo quando o hemograma está morfologicamente normal. Se a diminuição do nível de ferritina for acompanhada de anemia hipocrómica microcítica, estamos perante uma deficiência manifesta de ferro.¹

Quando o nível de ferritina está elevado e é possível excluir a possibilidade de distúrbio da distribuição, estamos perante uma manifestação de sobrecarga de ferro no organismo. Utiliza-se como limite o valor de 400 $\mu g/l$ (400 ng/ml) de ferritina. Também se encontram valores elevados de ferritina associados aos seguintes tumores: leucemia aguda, doença de Hodgkin e carcinoma do pulmão, do cólon, do fígado e da próstata. Ficou provado que a determinação da ferritina é um indicador importante de metástases no fígado. Os estudos indicam que 76% dos doentes com metástases no fígado apresentam valores de ferritina superiores a 400 $\mu g/l$ (400 ng/ml). Os motivos dos valores elevados poderão ser necrose celular, bloqueio da eritropoiese ou aumento da síntese do tecido tumoral. Dois anticorpos monoclonais de ratinho - M-4.184 e M-3.170 - são utilizados no teste para formar o complexo sandwich.

Princípio do teste

Técnica de sandwich. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: 10 μl de amostra, um anticorpo monoclonal biotilado específico anti-ferritina e um anticorpo monoclonal específico anti-ferritina marcado com complexo de ruténio^a reagem entre si e formam um complexo sandwich.
- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A

aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.

- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.
 - Complexo $Tris(2,2\text{-bipiridil})ruténio(II)$ ($Ru(bpy)_3^{2+}$)

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys Ferritin, Ref. 03737551 - 100 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml:
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml; capacidade de ligação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Anticorpo anti-ferritina-biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo monoclonal biotilado anti-ferritina (ratinho) 3,0 mg/l; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,2; conservante.
- R2 Anticorpo anti-ferritina-Ru(bpy)₃²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo monoclonal anti-ferritina (ratinho) marcado com complexo de ruténio 6,0 mg/l; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,2; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys Ferritin **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C:	12 semanas
no analisador MODULAR ANALYTICS E170:	6 semanas
no analisador Elecsys 2010:	6 semanas
no analisador Elecsys 1010:	4 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro é colhido utilizando tubos de amostra padrão.

Plasma tratado com heparina-Li, -Na, EDTA-K₃ e citrato de sódio.

Se for utilizado citrato de sódio, os resultados têm de ser corrigidos em + 10%.

Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive

0,9-1,1 + intercepção dentro de $< \pm 2$ x sensibilidade analítica

+ coeficiente de correlação $> 0,95$.

Estabilidade: 7 dias a 2-8°C, 12 meses a -20°C.⁸

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Ao utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.



As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C). Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Material fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Material necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 03737586, Elecsys Ferritin CalSet, 4 x 1 ml
- Ref. 04415299, Elecsys PreciControl Anemia, para 2 x 2 ml cada de PreciControl Anemia 1, 2 e 3 ou Ref. 11776452, Elecsys PreciControl Tumor Marker, 2 x 3 ml cada de PreciControl Tumor Marker 1 e 2 ou Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Ref. 11732277, Elecsys Diluent Universal, 2 x 18 ml de diluente de amostras ou Ref. 03183971, Elecsys Diluent Universal, 2 x 40 ml de diluente de amostras
- Equipamento normal de laboratório
- Analisadores Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Acessórios para os analisadores Elecsys 1010 e 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cuvetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cuvetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Apenas disponível nos EUA:

- Ref. 04393953, Elecsys Ferritin CalCheck, 3 intervalos de concentração

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisador Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Calibração

Rastreabilidade: O ensaio Elecsys Ferritin (Ref. 03737551) foi padronizado contra o teste Elecsys Ferritin (Ref. 11820982). O teste Elecsys Ferritin (Ref. 11820982) foi padronizado contra o método Enzymun-Test Ferritin. Este, por sua vez, foi padronizado contra o NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control) "Reagent for Ferritin (human liver)" 80/602. Cada dispositivo de reagentes Elecsys Ferritin contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do Elecsys Ferritin CalSet.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisador Elecsys 1010:

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)
- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)

Para todos os analisadores:

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

O software do analisador verifica automaticamente a validade da curva e alerta para eventuais desvios.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize Elecsys PreciControl Anemia 1, 2 e 3 ou Elecsys PreciControl Universal 1 e 2 ou Elecsys PreciControl Tumor Marker 1 e 2.

Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado. Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração do analito de cada amostra (em µg/l ou ng/ml).

Limitações – interferências

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 1.112 µmol/l ou < 65 mg/dl), hemólise (Hb < 0,31 mmol/l ou < 0,5 g/dl), lipemia (Intralipid < 3.300 mg/dl) e biotina < 205 nmol/l ou < 50 ng/ml.

Crítério: recuperação dentro de ± 10% do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até uma concentração de 2.500 UI/ml.

Não foi observado qualquer efeito "high-dose hook" em concentrações de ferritina até 100.000 µg/l (100.000 ng/ml).

Foram efectuados testes in vitro com 19 fármacos frequentemente utilizados.

Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Os iões de ferro²⁺ e ferro³⁺ em concentrações terapêuticas não interferem com o ensaio Elecsys Ferritin.

Tal como acontece com todos os testes que contêm anticorpos monoclonais de rato, este teste pode produzir resultados errados em



Ferritin

Ferritina

para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à exceção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

cobas

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.
©2005 Roche Diagnostics

CE

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

