

# Iron Ferro

## Informações para encomenda

COBAS INTEGRA Ferro	150 Testes	Ref. 20737585 322 System-ID 07 3758 5
Calibrator f.a.s.	12 x 3 ml	Ref. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (para EUA)	12 x 3 ml	Ref. 10759350 360 System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 x 5 ml	Ref. 10171743 122 System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 x 5 ml	Ref. 10171778 122 System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 x 3 ml	Ref. 12149435 122 System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 x 3 ml	Ref. 12149443 122 System-ID 07 8000 6

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizada a cassette

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

## Função

A cassette COBAS INTEGRA Iron (IRON) contém um sistema de reagentes para diagnóstico in vitro, para utilização nos sistemas COBAS INTEGRA, com vista à determinação quantitativa da concentração de ferro no soro e no plasma (teste IRON, 0-058).

## Características<sup>1,2</sup>

O grupo prostético da hemoglobina é o complexo de ferro da protoporfirina IX (heme) no qual o átomo de ferro, localizado no centro, actua como estabilizante da oxihemoglobina. Numerosas enzimas e coenzimas requerem ferro, por ex. peroxidases, catalases, citocromos (que também são proteínas heme), muitas das enzimas do ciclo Krebs e a monoamino-oxidase (que está envolvida na neurotransmissão).

O teor de ferro total do organismo é de cerca de 3 a 3,5 g. Desta quantidade, cerca de 2,5 g encontram-se nos eritrócitos ou nos respectivos precursores da medula óssea. O plasma contém apenas cerca de 2,5 mg de ferro. O ferro é transportado sob a forma de Fe(III) ligado à proteína plasmática apotransferrina. O complexo apotransferrina-Fe(III) denomina-se transferrina. O ferro é armazenado principalmente nos hepatócitos, onde se encontra ligado à ferritina e à hemossiderina. As necessidades totais do corpo variam entre 1 e 2 mg por dia, dependendo da idade e do sexo.

A concentração de ferro no soro pode diminuir em pacientes com anemia por deficiência de ferro e em doenças inflamatórias crónicas ou agudas, tais como infecções agudas, imunização e enfarte do miocárdio. Hemorragias agudas ou recentes ou até a dádiva de sangue podem provocar diminuição da concentração de ferro no soro. A concentração de ferro sérico também diminui durante a menstruação.

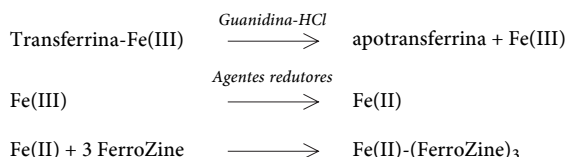
Ocorre um aumento da concentração de ferro sérico em doenças com sobrecarga de ferro, como as hemocromatoses, na hepatite aguda, no envenenamento agudo por ferro nas crianças e na sequência da ingestão oral de medicamentos com ferro ou da sua administração por via parentérica.

## Princípio do teste

Método Guanidina/FerroZine.<sup>3,4,5,6</sup>

O Fe(III) é libertado da transferrina, por acção do cloridrato de guanidina, e reduzido a Fe(II), por acção do ascorbato e da hidroxilamina. Os iões de ferro bivalentes formam um complexo

quelado de cor avermelhada com FerroZine. Para evitar a interferência pelo cobre, os iões cúpricos ligam-se à tioureia.



A intensidade da cor é directamente proporcional à concentração de ferro. É determinada medindo o aumento da absorvância a 552 nm.

## Reagentes - soluções de trabalho

- R1 Cloridrato de guanidina no frasco A (líquido).
- R2 Ascorbato no frasco B (granulado).
- R3 = SR FerroZine no frasco C (líquido).

## Componentes activos

Componentes	Concentrações (reconstituído)			
	R1	R2	SR	Test
Guanidina-HCl	4,5			1,2 mol/l
Hidroxilamina	300			78 mmol/l
Tioureia	120			31 mmol/l
Ascorbato		225		13 mmol/l
FerroZine			40	1,5 mmol/l
Acetato			200	7,4 mmol/l
pH	4,5		5,0	4,5

O reagente R1 contém um surfactante não reactivo. Consulte a etiqueta da cassette para saber quais são os volumes dos reagentes.

## Precauções e advertências

Preste atenção a todas as precauções e advertências incluídas na Introdução do Manual de Métodos, Capítulo 1.

ADVERTÊNCIA: Este reagente contém tioureia, uma substância conhecida no Estado da Califórnia por causar cancro ou lesões do aparelho reprodutor. Pode também causar reacções cutâneas. Em caso de contacto, lave as zonas afectadas com água em

## INTEGRA 400/700/800

abundância. Em caso de contacto com os olhos ou ingestão, entre imediatamente em contacto com um médico. Este dispositivo contém preparações que estão classificadas da seguinte forma, de acordo com a directiva europeia 88/379/CEE:



O R1 contém cloridrato de guanidina a 38% p/p.  
 Nocivo  
 R 22 Nocivo por ingestão.  
 R 36/38 Irritante para os olhos e pele.  
 S 22 Não respirar as poeiras.  
 Telefone de contacto: todos os países: +49-621-7590,  
 EUA: +1-800-428-2336

**Preparação dos reagentes**

COBAS INTEGRA 400/400 plus  
 Antes de introduzir a cassette, perfure a folha de alumínio dos frascos de reagente utilizando a parte pontiaguda da ferramenta que destrava a base dos suportes de reagentes e/ou amostras (racks). Depois de inserida a cassette, o granulado R2 é reconstituído automaticamente com o volume de água apropriado. Coloque a cassette reconstituída no Cassete Mixer e homogeneize durante 10 minutos.

COBAS INTEGRA 700/800  
 O granulado R2 é reconstituído automaticamente e homogeneizado durante aprox. 5 minutos com o volume de água apropriado.

**Conservação e estabilidade**

Validade a 2-8°C Ver o prazo de validade na cassette.

Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus  
 No analisador a 10-15°C 4 semanas

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800  
 No analisador a 8°C 8 semanas

**Colheita e preparação das amostras**

Para colheita e preparação das amostras utilize apenas tubos ou cuvetes de amostra apropriados.

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

Soro (livre de hemólise e lipemia).

Plasma (livre de hemólise e lipemia): Tratado com heparina de lítio. Não utilizar como anticoagulantes para plasma EDTA, oxalato ou citrato, uma vez que se ligam aos iões de ferro, impedindo a sua reacção com o cromogénio.

As amostras devem ser colhidas de manhã, para evitar resultados baixos devido à variação diurna.<sup>1</sup>

Os tipos de amostras foram analisados com uma série de tubos de colheita de amostras disponíveis comercialmente na altura da análise, i.e. não foram testados todos os tubos disponíveis de todos os fabricantes. Os sistemas de colheita de amostras de vários fabricantes podem conter materiais diferentes que às vezes podem afectar os resultados de teste. Quando utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Estabilidade:<sup>7</sup> 7 dias a 20-25°C  
 3 semanas a 4-8°C  
 vários anos a -20°C

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

**Materiais fornecidos**

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

**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 instruções mais específicas sobre o ensaio feito neste analisador.

**Aplicação para soro e plasma****Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R1-R2-S-SR
Sentido da reacção	Increase
Comprimento de onda A/B	552/652 nm
Primeiro/último cálc.	49/69
Intervalo do teste	0-150 µmol/l (0-839 µg/dl)
com pós-diluição	0-1.500 µmol/l (0-8.385 µg/dl)
Factor pós-diluição	10 (recomendado)
Unidade	µmol/l

**Parâmetros de pipetagem**

		Diluyente (H <sub>2</sub> O)
R1	35 µl	10 µl
R2	8 µl	10 µl
Amostra	25 µl	35 µl
SR	4 µl	8 µl
Volume total	135 µl	

**Analísadores COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R1-R2-S-SR
Sentido da reacção	Increase
Comprimento de onda A/B	552/652 nm
Primeiro/último cálc.	43/97
Intervalo do teste	0-150 µmol/l (0-839 µg/dl)
com pós-diluição	0-1.500 µmol/l (0-8.385 µg/dl)
Factor pós-diluição	10 (recomendado)
Unidade	µmol/l

**Parâmetros de pipetagem**

		Diluyente (H <sub>2</sub> O)
R1	35 µl	10 µl
R2	8 µl	10 µl
Amostra	25 µl	35 µl
SR	5 µl	7 µl
Volume total	135 µl	

**Calibração**

Calibrador	Calibrator f.a.s. Utilize água desionizada como calibrador zero.
Modo de calibração	Regressão linear
Repetição da calibração	Duplicado recomendado
Intervalo de calibração	Cada lote e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo de qualidade

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra um material de referência primário (pesado em material purificado).<sup>8</sup>

**Controlo de qualidade**

Intervalo de referência	Precinorm U ou Precinorm U plus
Intervalo patológico	Precipath U ou Precipath U plus
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Sequência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

Para o controlo de qualidade, utilize o material de controlo indicado sob "Informações para encomenda". Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado. 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

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a concentração do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analizador COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analizadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Factor de conversão:  $\mu\text{mol/l} \times 5,59 = \mu\text{g/dl}$

#### Limitações - interferências

Critério: Recuperação dentro de  $\pm 10\%$  do valor inicial.

Soro, plasma

Hemólise	Sem interferência significativa até um índice H de 500 (concentração aproximada de hemoglobina: 500 mg/dl ou 311 $\mu\text{mol/l}$ ).
Icterícia	Sem interferência significativa até um índice I de 40 (concentração aproximada de bilirrubina conjugada e não conjugada: 40 mg/dl ou 684 $\mu\text{mol/l}$ ).
Lipemia	Não utilize amostras lipémicas.
Outras	Sem interferência significativa até um nível de albumina de 7 g/dl e um nível de $\gamma$ -globulina de 4 g/dl.  Nos doentes tratados com suplementos de ferro ou com medicamentos de ligação de metais, o ferro ligado pelo medicamento pode não reagir correctamente no teste, conduzindo a resultados falsamente baixos. Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem), pode produzir resultados pouco fiáveis.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

#### Valores teóricos<sup>9</sup>

Mulheres	6,6-26,0 $\mu\text{mol/l}$	(37-145 $\mu\text{g/dl}$ )
Homens	11-28 $\mu\text{mol/l}$	(61-157 $\mu\text{g/dl}$ )

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

#### Dados específicos sobre o desempenho<sup>8</sup>

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

#### Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio  $n = 20$ , inter-ensaio  $n = 20$ ). Obtiveram-se os seguintes resultados:

	Nível 1	Nível 2
Média	7,7 $\mu\text{mol/l}$ (43 $\mu\text{g/dl}$ )	42,4 $\mu\text{mol/l}$ (237 $\mu\text{g/dl}$ )
CV intra-ensaio	2,4%	0,97%
CV inter-ensaio	2,9%	1,8%

#### Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

0,24  $\mu\text{mol/l}$  (1,34  $\mu\text{g/dl}$ )

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado 3 desvios padrão (DP) acima de uma amostra zero (amostra zero + 3 DP, precisão intra-ensaio,  $n = 30$ ).

#### Comparação dos métodos


Os valores de ferro das amostras de soro e plasma humanos obtidos no analisador COBAS INTEGRA 700 com a cassette COBAS INTEGRA Iron foram comparados com os valores determinados com um reagente à venda no mercado para ferro no analisador COBAS MIRA e num sistema de química clínica de um outro fabricante. As amostras foram medidas em duplicado. O tamanho da amostra (n) representa todas as réplicas. Os valores variaram entre 1,3 e 63,4  $\mu\text{mol/l}$  (7 a 354  $\mu\text{g/dl}$ ).

	Analisador COBAS MIRA	Sistema alternativo
Tamanho da amostra (n)	236	226
Coefficiente corr. (r)	0,998	0,998
( $r_s$ )	0,997	0,996
Regressão linear	$y = 1,02x + 0,1 \mu\text{mol/l}$	$y = 0,95x + 0,5 \mu\text{mol/l}$
Passing/Bablok	$y = 1,03x + 0,1 \mu\text{mol/l}$	$y = 0,95x + 0,4 \mu\text{mol/l}$

#### Bibliografia

- Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987:789-824.
- Bauer JD. Hemoglobin, porphyrin, and iron metabolism. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation. St. Louis: Mosby Company 1984:611-655.
- Stookey LL. FerroZine - a new spectrophotometric reagent for iron. Anal Chem 1970;42:779-781.
- Williams HL, Johnson DJ, Haut MJ. Simultaneous spectrophotometry of  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  in serum denatured with guanidine hydrochloride. Clin Chem 1977;23:237-240.
- Eisenwiener HG, Rietz P, Schläpfer PJ. Die Bestimmung des Eisens mit der Guanidiniumchloride/Ferrozin-Methode. J Clin Chem Clin Biochem 1979;17:149.
- Duffy JR, Gaudin J. Copper interference in the determination of iron in serum using ferrozine. Clin Biochem 1977;10:122-123.
- Guder WG, Narayanan S, Wissner H, Zawta B. List of Analytes; Pre-Analytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
- Documentação da Roche Diagnostics.
- Heil W, Koberstein R, Zawta B. Reference Ranges for Adults and Children, Pre-Analytical Considerations. 6th ed. 1999 (Published by Roche Diagnostics).

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.  
©2005 Roche Diagnostics

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

