Ferro TPTZ - SNIBE

MÉTODO
TPTZ

FINALIDADE
Reagentes para a determinação quantitativa da concentração de ferro presente no soro humano e plasma heparinizado. Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

FUNDAMENTO
O Fe^{3+} é reduzido a Fe^{2+}, o qual forma um complexo com o TPTZ (2,4,6-Tri (2-piridil)1-3-5-triazine). O complexo apresenta absorbância máxima em 590 nm. A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de ferro na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO
O ferro sérico reflete principalmente a quantidade de ferro ligado a transferrina. A transferrina sérica representa a quantidade máxima de ferro que pode estar ligado, a qual é referida como capacidade total de ferro ligado (TIBC). O ferro é armazenado no tecido ligado a uma proteína chamada ferritina. A hemostasia do ferro é regulada principalmente pela absorção e não pela excreção. Nos estados patológicos, as elevações do ferro sérico podem ser vistas em (1) condições de destruição aumentada de eritrócitos (anemia hemolítica), (2) formação sanguínea diminuída (envenenamento por chumbo ou deficiência de piridoxina), (3) liberação aumentada de ferro dos armazenamentos do corpo (liberação de ferritina em necrose celular hepática aguda), (4) armazenamento defeituoso de ferro (anemia perniciosa) e (5) velocidade aumentada de absorção (hemocromatose e siderose transfusional). A diminuição de ferro sérico é conseqüência de (1) suprimento inadequado, (2) aumento da demanda (gravidez, crianças até 5 anos), (3) perda sanguínea ou combinação destes. Em condições como infecções e malignidade o ferro também está diminuído.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 - 8°C.

BUF – Tampão: Tampão glicina (pH 1,7) 370 mmol/L; Ácido l-ascórbico 10,2 mmol/L; Conservantes.

SUB – Substrato: Tampão glicina (pH 1,7) 130 mmol/L; 2,4,6-Tri (2-piridil)1-3-5-triazine (TPTZ) 3,8 mmol/L; Conservantes.

PREPARO DOS REAGENTES
Os reagentes estão prontos para uso.

ESTABILIDADE
Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 e 8ºC. Deve-se evitar contaminação. Não congelar. SUB deve ser protegido da luz. A estabilidade dos reagentes depois de abertos *on board* do analisador é de até 56 dias.

TRANSPORTE
O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 7 dias e em uma temperatura de até 37ºC.

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

PRECAUÇÕES:
• Não ingerir ou aspirar os reagentes. Evitar contato com a pele e as mucosas.
• Todo o material contendo amostras de pacientes ou controles deve ser inativado por procedimentos validados (autoclavação ou tratamento químico).
• Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
• Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS:
Tipo de amostra: Soro, plasma heparinizado. Não utilizar EDTA, oxalato ou plasma citratado.

Estabilidade das amostras: Em soro e plasma é de 3 dias quando armazenado a 20 - 25°C e 7 dias quando armazenado a 2 - 8°C.

• O transporte de amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8ºC) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de Onda: 620 nm
Caminho Ótico: 1 cm
Temperatura: 37°C
Medida: contra reagente branco (Rb)

B. Procedimento de teste:

Macro (cuveta padrão)

Pipete na cubeta:	Amostra/STD
Amostra/STD	400 µL
BUF	2000 µL
Homogeneizar. Incubar por 5 minutos a 37°C. Medir a absorbância da amostra/STD: A_1	
SUB	500 µL
Homogeneizar. Incubar por 5 minutos a 37°C. Medir a absorbância da reação da amostra/STD: A_2	
Calcular: $\Delta A_{STD/amostra} = A_{2\ STD/amostra} - A_{1\ STD/amostra} * 0,83$	

Semi-micro (célula de fluxo)

Pipetas nas cubeta:	Reagente branco (Rb)	Amostra/STD
Amostra/STD	200 µL	200 µL
Água deionizada ou destilada	250 µL	---
BUF	1000 µL	1000 µL
Medir a absorbância de A_1. Homogeneizar. Incubar por 5 minutos a 37°C.		
SUB	---	250 µL
Homogeneizar e incubar por 5 minutos a 37°C. Medir a absorbância A_2.		
Calcular: $\Delta A_{STD/amostra} = A_2 - A_1$		

CÁLCULO
Fator de conversão: 1 µg/dL = 0,179 µmol/L
A partir das leituras, calcular:
Concentração de ferro [µg/dL; µmol/L] = $STD/\Delta A_{STD} * \Delta A_{amostra}$

CALIBRAÇÃO
Antes da primeira bateria de testes é necessária a realização de uma calibração. Para a calibração deve-se usar o Multicalibrador de Bioquímica - Snibe de acordo com os procedimentos descritos em sua instrução de uso (tabela). Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A recalibração é necessária:
- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.
- Após a estabilidade de calibração, ver tabela na seção "Estabilidade do reagente".

VALORES DE REFERÊNCIA

Idade	Sexo	Unidade convencional	Unidade SI
2 semanas		63 – 201 µg/dl	11 – 36 µmol/l
6 meses		28 – 135 µg/dl	5 – 24 µmol/l
12 meses		35 – 155 µg/dl	6 – 28 µmol/l
2 – 12 anos		22 – 135 µg/dl	4 – 24 µmol/l
Adultos	Masculino	59 – 158 µg/dl	10.6 – 28.3 µmol/l
Adultos	Feminino	37 – 145 µg/dl	6.6 – 26.0 µmol/l
Grávidas			
12ª semana de gravidez	Feminino	42 – 177 µg/dl	7.6 – 31.6 µmol/l
Dia do nascimento	Feminino	25 – 137 µg/dl	4.5 – 24.5 µmol/l
6 semanas após o nascimento	Feminino	16 – 150 µg/dl	2.9 – 26.9 µmol/l

Estes valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle contendo valores determinados pelo método TPTZ para o Ferro pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe. Os intervalos e limites do controle devem ser adaptados para as necessidades do laboratório. Os valores obtidos devem ficar dentro dos limites estabelecidos. Cada laboratório deverá estabelecer medidas corretivas que serão seguidas se os valores encontrarem-se fora destes limites.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
Os valores de ferro são rastreáveis ao Multicalibrador de Bioquímica - Snibe, que por sua vez é rastreável ao material de referência NIST SRM 909c.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
O Ferro TPTZ (teste) foi comparado com o reagente Iron, Beckman Coulter, medido no analisador AU 480, Beckman Coulter (referência). Amostras de pacientes bem como soros controle, foram usados na comparação (n=63). Os resultados foram avaliados pelo método de regressão não paramétrico de acordo com Passing & Bablok.
Y = 0.9921 X + 2.3286 (µg/dl)
r = 0.9984
Y = teste
X = referência
O Ferro TPTZ está bem correlacionado com o Iron, da Beckman Coulter no AU 480, Beckman Coulter (r=0,9984) e nenhum desvio significante pode ser observado em nenhuma amostra específica.

Precisão
Repetibilidade/Reprodutibilidade
A repetibilidade do kit Ferro TPTZ foi calculada a partir de 20 determinações. A reprodutibilidade foi calculada por meio de 2 determinações em 20 dias consecutivos. Foram utilizados 2 soros controle e 1 pool linear como material de amostra. A calibração foi realizada no 1º dia.
O Ferro TPTZ cumpriu os critérios de aceitação de precisão (repetibilidade e reprodutibilidade) nas faixas de concentração baixa (~43,3 µg/dL), média (~100 µg/dL) e alta (400 µg/dL): CV ≤ 5.6%.

Sensibilidade
O limite de detecção (LoD) do Ferro TPTZ foi definido em 7,8 µg/dL.

Linearidade
A linearidade é de até 1200 µg/dL.

Interferentes
Substâncias interferentes foram adicionadas a amostras conhecidas. Nenhuma interferência foi detectada até as seguintes concentrações:

Substância Interferente	
Bilirrubina	até 40 mg/dL
Hemoglobina	até 500 mg/dL
Lipemia (Triglicérides)	até 2500 mg/dL
Ácido Ascórbico	até 20 mg/dL
Cobre	até 1000 µg/dL

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat. Nº	Reagentes	Volume
811-2	BUF SUB	2 x 48 mL 2 x 12 mL

BIBLIOGRAFIA

1. Diehl H., Smith G.F., The Iron Reagents, Bathophenanthroline, 2,4,6-Tripyridil-5-triazine. Phenyl- 2-pyridylketoxine, Smith, G.F. Chem. Co., Ohio (1960)
2. Ichida T. *et al.*, Clin. Chim. Acta, 22, 271 (1968)
3. Okazaki K. *et al.*, Japanese Journal of Clinical Laboratory Automation 6, Suppl. 91 (1981)
4. Weippl G. *et al.*, Blut 27, 261-270 (1973)
5. Seiffert U. B. *et al.*, Eisenbestimmung im Serum (Plasma) mit TPTZ, Lab.Med. 12, 174-178 (1988)

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
ANVISA: 10303460593 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

	Data limite de utilização
	Limite de temperatura (conservar a)
	Número do Catálogo
	Consultar Instrução de Uso
	Número do lote
	Produto Diagnóstico In Vitro
	Data de Fabricação
	Atenção! Pode ser corrosivo ao metal.