IBC - SNIBE

Capacidade de ligação do Ferro

MÉTODO
Ferrozine

FINALIDADE
Reagentes para a determinação da Capacidade Ligadora de Ferro no soro. Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

FUNDAMENTO
Os íons férricos presentes no Reagente 1 RGT1 saturam os sítios disponíveis para a ligação do ferro da Transferrina. O excesso de ferro não ligado forma com o Ferrozine, presente no Reagente 2 RGT2, um complexo magenta brilhante. A diferença entre esta quantidade de ferro e aquela contida no RGT1 é a Capacidade Latente de Ligação do Ferro (CLLF). Medindo-se a concentração do Ferro sérico e somando este valor a CLLF, obtém-se a Capacidade Total de Ligação do Ferro (CTLF).

SIGNIFICADO CLÍNICO
O transporte de Ferro no plasma é feito por uma Betaglobulina específica, a Transferrina, que pode ser dosada indiretamente através da quantidade de Ferro que ela pode fixar. Esta quantidade denomina-se Capacidade Total de Ligação de Ferro (CTLF). Para o diagnóstico completo do acúmulo ou deficiência de Ferro no paciente, os exames devem incluir um perfil hematológico completo, dosagem de Ferro, da CTLF e Índice de Saturação da Transferrina (IST). As causas mais frequentes do aumento da CTLF são: anemia por deficiência de Ferro, gravidez, uso de contraceptivos orais, estados de hipóxia, etc. A CTFF está diminuída em: doenças inflamatórias crônicas, doenças malignas, nefroses, intoxicação com Ferro, talassemia *major*. O IST está aumentado na intoxicação com Ferro, nefroses, talassemia *major*, deficiência de piridoxina, anemia hemolítica e sideroblástica. O IST está diminuído nas deficiências de Ferro, doenças malignas, infecções crônicas, gravidez e período menstrual.

Alterações do Metabolismo	Ferro Sérico	CTLF	IST (%)	RF (*)
Deficiência de ferro	D	E	D	A
Infecções crônicas	D	D	D	E
Doenças malígnas	D	D	D	E
Atransferrinemia	D	D	S	E
Período menstrual	D	S	D	S
Gravidez (3º trimestre)	D	E	D	S
Hemosiderose pulmonar	D	S	D	A
Nefrose, Kwashiorkor	D	D	E	E
Contraceptivos orais	S/E	E	S	S
Intoxicação com ferro	E	D	E	E
Anemia hemolítica	E	S/D	E	E
Hemocromatose	E	S/D	E	E
Deficiência de piridoxina	E	S	E	E
Anemia sideroblástica	E	S/D	E	E
Talassemia Maior	E	D	E	E

D = diminuído E = elevado
S = sem alteração A = ausente
(*) Reserva de ferro: avaliada pela coloração específica de esfregaço da medula óssea.
(**) Capacidade total de ligação do ferro.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 e 8°C.

RGT1 – Reagente 1: Tampão TRIS 25 mmol/L pH 8,40; cloreto férrico 35 micromol/L; Fenoxietanol 0,1%.

RGT2 – Reagente 2: Ferrozine 30 mmol/L e ácido ascórbico 300 mmol/L.

STD – Calibrador (liofilizado): Soro de matriz humana. A concentração é específica para o lote e se encontra no rótulo do frasco. Rastreável ao material de referência NIST SRM-937.

PREPARO DOS REAGENTES
Os reagentes RGT1 e RGT2 estão prontos para uso.

STD – Calibrador: Abrir o frasco cuidadosamente para evitar perda de liofilizado. Adicionar exatamente 1,0 mL de água recém destilada ou deionizada. Fechar o frasco cuidadosamente com a tampa de borracha e dissolver completamente o conteúdo. Girar o frasco ocasionalmente durante um período de 30 minutos. Evitar a formação de espuma.

ESTABILIDADE
Os reagentes estão prontos para uso e são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 e 8°C. Depois da abertura dos frascos eles permanecem estáveis até o vencimento da validade se armazenados bem fechados entre 2 e 8°C. Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.
O calibrador liofilizado é estável até a data de validade impressa no rótulo, quando fechados e armazenados entre 2 a 8ºC. Depois de reconstituído o calibrador deve ser armazenado por 7 dias entre 2 e 8°C ou 1 mês a -20°C.

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

PRECAUÇÕES
- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Os reagentes não possuem substâncias contaminantes. Mas cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes.
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitem infecções, recomenda-se manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança.
- Todo material a ser utilizado na técnica deve estar livre de íons ferro. Deve-se deixar o mesmo submerso em uma solução de Ácido Nítrico ou Clorídrico 10-15%, por 6 horas e, após, eliminar a acidez com numerosas lavagens com água deionizada (livre de ferro), com condutividade menor que 0,01 μSiemens.
- 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.

AMOSTRA BIOLÓGICA
Tipo de amostra: Soro.

Estabilidade das amostras: Estável por 4 dias de 2 a 8ºC. Não utilizar amostra hemolisada.

- O transporte da 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.

MÉTODO DE ANÁLISE

A. Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda 560 nm (540-580)
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 37ºC
Medida: Contra reagente branco.

B. Esquema de pipetagem:

Pipetar dentro das cubetas:	Branco	Calibrador	Amostra
RGT1	750 μL	750 μL	750 μL
Água deionizada/destilada	100 μL	---	---
Calibrador	---	100 μL	---
Amostra	---	---	100 μL
Homogeneizar suavemente. Incubar por 5 minutos a 37ºC. Medir as absorbâncias do branco, teste e calibrador em 560nm (540-580), acertando o zero com o Branco. Esta será a absorbância A1.			
Adicionar	Branco	Calibrador	Amostra
RGT2	200 μL	200 μL	200 μL
Homogeneizar suavemente e incubar 5 minutos a 37ºC. O nível da água no banho deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos. Medir as absorbâncias do branco, teste e calibrador em 560 nm (540-580), acertando o zero com água destilada ou deionizada. Esta será a absorbância A2.			

CÁLCULOS
A primeira leitura da absorbância (A_1) do Teste, Calibrador e Branco devem ser corrigidas para o volume final da reação, obtendo-se A_{1cor} antes de realizar o cálculo da concentração de ferro.

$A_{1cor} = A1 \times 0,809$

Para obter as absorbâncias do Teste e Calibrador, fazer a correção pelas leituras do branco de reagente:

Abs. Teste = Branco ($A_2 - A_{1cor}$) – Teste ($A_2 - A_{1cor}$)

Abs. Calibrador = Branco ($A_2 - A_{1cor}$) – Calibrador ($A_2 - A_{1cor}$)

$$CLLF\ (\mu g/dL) = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Calibrador}} \times CCal$$

CCal: Concentração do Calibrador

Exemplo:
Branco:
$A_1 = 0,005$ $A_{1cor} = 0,005 \times 0,809 = 0,0040$
$A_2 = 0,723$

Teste:
$A_1 = 0,028$ $A_{1cor} = 0,028 \times 0,809 = 0,023$
$A_2 = 0,699$

Abs. Teste: (0,723-0,0040) – (0,699-0,023) = 0,043

REV. 07/26

Calibrador:
CCal: 220 µg/dL
A_1 = 0,2440 A_{1cor} = 0,2440 x 0,809 = 0,0711
A_2 = 0,7028

Abs. Calibrador: (0,723-0,0040) – (0,7028-0,0711) = 0,087

$$CLLF\ (\mu g/dL) = \frac{0,043}{0,087} \times 220 = 109$$

Podemos usar o método de fator devido à reprodutibilidade obtida com o método.

Fator: $\frac{CCal}{\text{Absorbância do Calibrador}}$

CLLF (µg/dL) = Absorbância do Teste x Fator

Fator = 220/0,087 = 2528

CLLF (µg/dL) = 0,043 x 2528 = 109

CTLF (µg/dL) = Ferro Sérico + CLLF

$$IST\ (\%) = \frac{\text{Ferro Sérico}}{CTLF} \times 100$$

Transferrina (mg/dL) = CTLF x 0,70

CALIBRAÇÃO
Para a calibração recomenda-se o uso do calibrador do kit ou um multicalibrador de acordo com os procedimentos descritos em sua instrução de uso e tabela com valores. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida.
A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
- 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.

VALORES DE REFERÊNCIA
CLLF: Adultos: 140 - 280 µg/dL
CTLF: Crianças: 150 s 400 µg/dL
Adultos: 250 a 410 µg/dL
IST: 20 - 50%
Transferrina: 200 a 300 mg/dL

Para converter os valores de µg/dL em µmol/L multiplicar por 0,179.

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle contendo valores determinados por este método para a capacidade ligadora de ferro pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

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

RASTREABILIDADE
O Calibrador CAL é rastreável ao material de referência NIST SRM-937.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão:
O kit IBC da In Vitro Diagnóstica foi comparado com outro kit de IBC comercialmente disponível. Soros controle, bem como amostras de pacientes foram utilizados na comparação (N=27). Os resultados foram avaliados por componente principal de análise e por um modelo de regressão não paramétrica de acordo com Bablok & Passing. O critério de aceitação foi r > 0,95 e slope entre 0,95 e 1,05. A regressão linear obtida pode ser descrita como segue:
y = 0,9142x + 15,737
R^2 = 0,959
Média referência: 343,40 mg/dL
Média Teste: 358,43 mg/dL

Precisão
Repetibilidade:

N	Média (µg/dL)	DP (µg/dL)	% CV
20	357,14	3,19	0,89
20	329,76	3,94	1,19

Reprodutibilidade:

N	Média (µg/dL)	DP (µg/dL)	% CV
20	268,68	17,15	6,38
20	425,62	8,14	1,91

Sensibilidade:
A sensibilidade encontrada foi de 2,77 µg/dL.

Linearidade:
A reação é linear até a concentração de 500 µg/dL (CLLF). Para valores maiores diluir a amostra com água destilada ou deionizada, efetuar nova determinação e multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição.

Intreferentes:
Interferência por bilirrubina, hemoglobina, triglicerídeos foram estudados pela adição de quantidades conhecidas da substância potencialmente interferente a uma amostra conhecida. Não foi encontrada interferência em concentrações inferiores aos valores descritos abaixo:
Bilirrubina Total ≥ 20 mg/dL
Triglicérides ≥ 1000 mg/dL
Hemoglobina > 200 mg/dL

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat. n°	Reagente	Volume
819-2	RGT1	2 x 40 mL
	RGT2	2 x 10 mL
	STD	1 x 1 mL

BIBLIOGRAFIA

1. Goodwin, J.F.: Clin. Chem. 12, 47, 1966.
2. Horak, E.: Amer. J. Clin. Pathol. 62, 133, 1974.
3. Tonks, D.B.: Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Canada 1972
4. NCCLS, Determination of Serum Iron, Total Iron-Binding Capacity and Percent Transferrin Saturation: Approved Standard, NCCLS document H17A, Vol. 19 No. 19,1998

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: 10303460607 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