

Iron

Finalidade

Método colorimétrico direto para a determinação de ferro em soro ou plasma.

Significado clínico

O ferro encontra-se distribuído no organismo em diferentes formas que incluem: hemoglobina, ferro tissular e mioglobina. O transporte de ferro de um órgão a outro realiza-se mediante uma proteína transportadora: a apotransferrina. O complexo formado com o ferro é conhecido como transferrina. A ferritina, localizada em quase todas as células do corpo, constitui uma reserva de ferro disponível para a formação da hemoglobina e outras proteínas que contêm o grupo heme.

A absorção de ferro é realizada principalmente no duodeno.

Tanto a ferritina como a transferrina encontram-se nas células da mucosa intestinal e ambas regulam a absorção de ferro.

As mais grandes desordens do metabolismo de ferro relacionam-se com a deficiência ou excesso. No entanto, observam-se alterações em muitas outras doenças como anemia, doenças cardiovasculares, hepatite crônica, doenças renais e infecções.

A anemia por perda de ferro representa um dos transtornos orgânicos mais frequentes, principalmente em crianças, mulheres jovens, grávidas e idosos. Também constituem causas de anemia ferropênica as úlceras gástricas ou duodenais e carcinoma de estômago.

Por outra parte, o excesso de ferro associa-se com outros desordens como hemossiderose, hemocromatose e anemia sideroblástica.

As técnicas fotométricas para a determinação de ferro em soro baseiam-se na formação de um complexo com um cromogênio, entre os quais, a ferrozina e batofenantrolina são os mais usados.

Este método utiliza um agente quelante adicional, o ferene, para aumentar a sensibilidade do ensaio colorimétrico. O ferene apresenta uma elevada absorvidade molar, é mais sensível que a ferrozina e facilita a detecção de ferro.

Fundamento do método

O ferro é liberado do complexo de transferrina em meio ácido e se reduz a Fe (II) com ácido ascórbico. Logo após reage com o reagente de cor, o ferene, dando origem a um complexo de cor azul que é medido a 600 nm. A absorvância obtida é diretamente proporcional à concentração de ferro.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de ácido cítrico 200 mM, ácido ascórbico 34 mM, tiouréia 100 mM e tensoativo.

B. Reagente B: solução estabilizada de ferene > 3 mM.

S. Padrão: solução de íons ferro (III) equivalente a 100 µg/dL.

Reagentes não fornecidos

- Laborcal da Laborlab.
- Água desionizada.

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Evitar a ingestão e o contato com os olhos.

O **Reagente A** contém tiouréia. Estudos experimentais realizados com esta droga demonstraram um possível efeito carcinógeno.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes A e B: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Padrão: estável sob temperatura ambiente (< 25°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Variações nas leituras de Brancos de Reagentes e/ou Padrão, são indícios de contaminações ocasionais (água, material de vidro, etc.).

Um aumento no valor dos Brancos indicará uma contaminação com ferro.

Amostra

Soro ou plasma com heparina

a) Coleta: o paciente deve estar em jejum, sendo que as extrações devem

ser realizadas sempre na mesma hora (preferencialmente de manhã) já que as oscilações fisiológicas são muito importantes durante o dia.

b) Aditivos: se a amostra é plasma deverá utilizar-se heparina como anticoagulante.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: o soro e o plasma heparinizado podem ser conservados até uma semana sob refrigeração (2-10°C) ou até um ano a -20°C.

Interferências

Não é observada interferência pela hemoglobina até 300 mg/dL, bilirrubina conjugada até 12 mg/dL, bilirrubina não conjugada até 35 mg/dL, nem heparina até 50 UI/mL. Os triglicérides não interferem até 1000 mg/dL utilizando técnica automática, nem até 250 mg/dL com técnica manual. Embora hemólises ligeiras não interferem com este método, o International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) recomenda a utilização de soro livre de hemólise.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou analisador automático.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos ou cubetas espectrofotométricas.
- Cronômetro.

Condições de reação

- Comprimento de onda: 600 nm
- Temperatura de reação: temperatura ambiente (< 25°C)
- Tempo de reação: 5 minutos
- Volume de amostra: 200 µL
- Volume total de reação: 1,4 mL

Procedimento

Em três tubos marcados B (Branco de Reagente), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Água bidestilada	200 µL	-	-
Padrão	-	200 µL	-
Amostra	-	-	200 µL
Reagente A	1 mL	1 mL	1 mL

Misturar. Ler a absorvância do tubo D (Branco de Soro BS) em espectrofotômetro a 600 nm levando a zero o aparelho com água. Depois adicionar:

Reagente B	200 µL	200 µL	200 µL
------------	--------	--------	--------

Misturar imediatamente. Voltar a ler cada tubo em 5 minutos, levando o aparelho a zero com água.

Estabilidade da mistura de reação final

Os tubos devem ser lidos entre 5 e 30 minutos após completados os passos do procedimento.

Cálculo dos resultados

Corrigir as leituras de P e D, subtraindo os Brancos correspondentes:

$P - B = P$ corrigido

$D - (B + BS) = D$ corrigida

Fe (µg/dL) = D corrigida x f

$$\text{onde: } f = \frac{100 \text{ µg/dL (Padrão)*}}{P \text{ corrigido}}$$

* Se utilizar Laborcal, consultar os valores determinados já que são lote específico. Neste caso, a leitura do calibrador deverá se corrigir subtraindo o branco correspondente.

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Amostra

B Branco de amostra: 0,048

D Amostra: 0,167

Absorvância da amostra (D corrigida): 0,167 - (0,048 + 0,028): 0,167 - 0,076 = 0,091

Padrão

BS Branco de Padrão: 0,028

S Padrão: 0,090

Absorbância do Padrão (S corrigido): 0,090 – 0,028; 0,062

$$\text{Fator} = \frac{100 \text{ ug/dL}}{0,062} = 1613$$

$$\text{Fe (ug/dL)} = 0,091 \times 1613 = 147 \text{ ug/dL}$$

Método de controle de qualidade

Processar dois níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com concentrações conhecidas de ferro, com cada determinação.

Valores teóricos

Homens: 65 a 175 ug/dL (11,6-31,3 umol/L)

Mulheres: 50 a 170 ug/dL (9-30,4 umol/L)

Valores de referência

Homens: 114,6 ug/dL (20,5 umol/L)

Mulheres: 103,3 ug/dL (18,5 umol/L)

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

Ferro (ug/dL) x 0,179 = Ferro (umol/L)

Limitações do procedimento

- Vide "Interferências".

- São necessários valores de Branco aceitáveis para antecipar as possíveis contaminações com ferro da água e os reagentes. O Branco de Reagente processado segundo a bula, não deve superar 0,05 D.O. devendo ser ainda desprezível a contribuição de água no Branco. Recomenda-se o uso de água de qualidade comprovada.

- O Reagente A pode adquirir uma leve cor amarela que não altera a sua reatividade.

- Limpeza do material: todo o material de laboratório utilizado deve estar livre de ferro, submergindo-o durante 6 horas em HCl p.a. 10%, eliminando a acidez com vários lavados com água livre de ferro. Todo o material deve ser utilizado só para a determinação de ferro.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando segundo o documento EP15-A do (CLSI), obteve-se o seguinte:

Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
61,84 ug/dL	± 0,87 ug/dL	1,40 %
116,89 ug/dL	± 0,46 ug/dL	0,39 %
236,31 ug/dL	± 0,72 ug/dL	0,31 %

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
61,82 ug/dL	± 0,88 ug/dL	1,42 %
116,89 ug/dL	± 1,30 ug/dL	1,11 %
236,31 ug/dL	± 2,83 ug/dL	1,20 %

b) Linearidade: a reação é linear até 1500 ug/dL em analisa dores automáticos e até 1000 ug/dL utilizando a técnica manual.

c) Limite de detecção: a mínima concentração de ferro detectável utilizando o método de Iron da Laborlab é 1 ug/dL.

d) Limite de quantificação: a mínima concentração de ferro que pode-se quantificar com precisão e exatidão aceitáveis com o método de Iron da Laborlab é 4 ug/dL.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar o Laborcal da Laborlab segundo os requerimentos do analisador.

Apresentação

1 x 80 mL **Reagente A**

1 x 16 mL **Reagente B**

1 x 20 mL **Padrão**

(Cód. 1770180)

Referências

- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543-545 (1971).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.

- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. - "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry", 5ª edição, 2001.

- Imbert-Bismut et al, - Clin. Chem., 47/11: 2059-2061, 2001.

- Tietz, N.W.; Rinker, A.D.; Morrison, S.R. - Clin. Chem. 40/4:546-551, 1994.

- Artiss, J.D. et al. - Clin. Biochem. 14/6:311-315, 1981.

- Smith, F.E. - Clin. Biochem. 17:306-310, 1984.

- NTP, National Toxicology Program, Department of Health and Human Service, Report of Carcinogens, 2005.

- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP15-A, 2001 / EP6-A, 2003 / EP17-A, 2004.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Européia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br