

Finalidade

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

Significado Clínico

A determinação de ferro é importante para o diagnóstico e tratamento de anemias.

Encontra-se diminuído em anemia ferropriva, insuficiência renal crônica e algumas doenças da medula óssea, dentre outras.

Aumento de ferro sérico são observados na hemocromatose, anemia hemolítica e envenenamento agudo por 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 absorbância obtida é diretamente proporcional à concentração de ferro.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de ácido cítrico 200 mM, ácido ascórbico 34 mM, tioureia 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 Vet da Laborlab.

Água deionizada/bidestilada.

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico *in vitro* veterinário.

Evitar a ingestão e o contato com os olhos.

O **Reagente A** contém tioureia. 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 descartados conforme a 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 indica 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 for plasma, a heparina deve ser utilizada 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 por 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 triglicerídeos não interferem

até 1000 mg/dL utilizando técnica automática, nem até 250 mg/dL com técnica manual.

Embora hemólises ligeiras não interfiram neste método, o International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) recomenda a utilização de soro livre de hemólise.

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 ou Calibrador) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Água deionizada	200 µL	-	-
Padrão ou Calibrador	-	200 µL	-
Amostra	-	-	200 µL
Reagente A	1 mL	1 mL	1 mL

Misturar. Ler a absorbância 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.

Cálculos dos resultados

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

$P - B = P$ corrigido

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

$Fe (\mu\text{g/dL}) = D$ corrigida x f

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

* Quando for utilizado o Laborcal Vet, 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

Absorbância 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): $0,090 - 0,028 = 0,062$

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

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

Conversão de unidades

$Ferro (\mu\text{g/dL}) \times 0,179 = \text{Ferro } (\mu\text{mol/L})$

Método de Controle de Qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol Vet 1 e 2) com atividades conhecidas de ferro, com cada determinação

Valores de Referência

Espécie (µg/dL)

Canina	30 – 180
Felina	68 – 215
Bovina	57 – 162
Equina	73 – 140

Os valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população de animais atendida, seus próprios valores de referência.

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 as instruções de uso, 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 realizando várias lavagens com água livre de ferro. Todo o material deve ser utilizado somente para a determinação de ferro.

Desempenho

a) **Reprodutibilidade:** processando 20 determinações simultaneamente de uma amostra canina e outra equina com valores dentro do intervalo de referência, obteve-se o seguinte:

Amostra Canina:

Concentração	D.P.	C.V.
341	3,62	1,06
176	2,45	1,39

Amostra Equina:

Concentração	D.P.	C.V.
243	2,78	1,14
334	3,17	0,94

b) **Linearidade:** a reação é linear até 1500 µg/dL em analisadores automáticos e até 1000 µg/dL utilizando a técnica manual.

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

d) **Limite de quantificação:** a mínima concentração de ferro que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis com o método da Laborlab é 4 µg/dL.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração do aparelho deve ser utilizado o **Laborcal Vet** da Laborlab.

Apresentação

1 x 50 mL Reagente A

1 x 10 mL Reagente B

1 x 20 mL Padrão

(Cód. 1774184)

Referências

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

- 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.

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

- González, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

- Kerr, Morag G. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária 2ª ed., Roca: São Paulo, 2003.

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.

SÍMBOLOS



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



Representante autorizado na Comunidade Europeia



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



Laborlab 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

Revisão 00

Agosto, 2020