

## 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 maiores 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 freqüentes, 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 outras 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 absorbância 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 demonstram um possível efeito carcinogênico.

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 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.

## 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

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

\* 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

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

$\frac{100 \text{ µg/dL}}{\text{P corrigido}}$

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

0,062

Fe (µg/dL) = 0,091 x 1613 = 147 µg/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, Departmen 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.

### 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



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