



# QUIMIFER - Ferro Ferozina

## Finalidade:

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de ferro em amostras de soro e plasma humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

## Princípio:

O íon férrico presente na amostra e unido à transferrina é liberado por ação do guanidínio e reduzido a íon ferroso por ácido ascórbico. O íon ferroso forma um complexo colorido com a ferrozina e pode ser quantificado por espectrofotometria quando medido a 550nm.

## Metodologia:

Ferozina

## Significado Clínico:

A maior parte do ferro corporal é encontrada no componente heme das hemoproteínas (principalmente hemoglobina, ou em formas de armazenamento (ferritina e hemossiderina). O ferro plasmático e as várias enzimas contendo ferro representam menos de 1% do ferro corporal total. Uma deficiência de ferro causa uma redução na velocidade da síntese de hemoglobina, e pode resultar na anemia ferropriva. A deficiência de ferro é mais comumente observada em mulheres pré-menopausa, como resultado da perda de sangue durante a menstruação, e em homens com sangramento indetectado do trato gastrointestinal. A deficiência de ferro também pode ser causada por uma dieta pobre em ferro ou por absorção intestinal diminuída de ferro.

Ao contrário das mulheres pré - menopausa, os homens adultos não devem utilizar suplementos de ferro, porque os altos níveis teciduais de ferro correlacionam-se a um risco maior de infarto do miocárdio. Foi sugerido que o ferro inorgânico livre pode promover a formação de radicais de oxigênio reativos, particularmente a conversão de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em radicais hidroxila altamente reativos. A maior formação de radicais de oxigênio favorece a oxidação da LDL (lipoproteína de densidade baixa).

## Reagentes:

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Cloreto de guanidínio 1,0 mmol/L; tampão acetato 0,4 mmol/L em pH4,0.

Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Ferrozina 8 mmol/L, ácido ascórbico 200 mmol/l. Reagente volátil. Manter refrigerado e fechado o R2 em uso para diminuir a volatilidade.

Para alguns analisadores é necessário preparar o Reagente de Trabalho: Misturar os reagentes na proporção: 1 parte do reagente 2 + 4 partes do reagente 1 (4mL R1 + 1mL R2). Estável por 6 meses a 2 - 8°C.

Padrão (cód 3036): conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa com concentração de ferro rastreadável ao Material de Referência Padrão proposto pelo NIST 937. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de 30 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

## Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar o reagente se o mesmo estiver visualmente turvo, com presença de precipitado e/ou se a absorbância do branco ultrapassar 0,0800 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido a 560 nm, ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

## Material Necessário não Fornecido:

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 560 nm (540 - 580nm).
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Calibradores e soros controle.
- Medidor de tempo.

## Amostra:

O ferro em amostras de soro ou plasma heparinizado é estável por 7 dias se mantido entre 2 - 8°C. Todas as amostras e controles são considerados potencialmente

infecantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

## Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 8 horas e coleta pela manhã. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

## Interferências:

Soros hemolisados não poderão ser usados pois hemoglobina interfere no resultado

Lipemia < 15 g/L e Bilirrubina < 20mg/dL não interferem no resultado.

O material empregado no procedimento, deve estar completamente isento de ferro. É aconselhável utilizar material descartável, lavar com ácido ou fazer uso de tubos de plástico.

Medicações com ferro (oral, intravenosa ou intramuscular) podem afetar os níveis por até 2 a 4 semanas seguidas da administração oral de 600 mg de ferro succinato causa aumento triplo de ferro sérico no prazo de 3 horas.

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do ferro, sugerimos consultar Young et al.

## Parâmetros do Sistema:

Temperatura: Ambiente  
Comprimento de Onda: 560nm (540 - 580nm).  
Tipo de Reação: Colorimétrica  
Direção: Crescente  
Relação Amostra/Reativo: 1:5  
Vol. Amostra: 200 µL  
Vol. Reagente de trabalho: 1.0 mL  
Tempo de Incubação: 5 minutos.

## Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram Cód.7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit do cód 3036. A concentração de ferro no Quimicalib é rastreadável ao método de referência proposto pelo CLSI e no padrão ao Material de Referência Padrão proposto pelo NIST 937.

## Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente, para alguns analisadores é necessário a utilização de reagente de trabalho. Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 3 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

## Procedimento Manual:

Preparar o Reagente de Trabalho: Misturar os reagentes na proporção: 1 parte do reagente 2 + 4 partes do reagente 1 (4mL R1 + 1mL R2). Reagente assim preparado permanece estável por 6 meses a 2 - 8°C.

- Conduzir o reagente à temperatura ambiente
- Separar 4 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco Reag	Branco amostra	Amostra/S.C.	Padrão
Água dest.	200µL	-	-	-
Amostra/S.C.	-	200µL	200µL	-
Padrão	-	-	-	200µL
Reagente 1	-	1,0mL	-	-
Reag. de trabalho	1,0mL	-	1,0 mL	1,0 mL

- Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos à temperatura ambiente.
- Registrar as absorbâncias dos brancos de amostra a 560nm (540 - 580nm) contra a água destilada.
- Registrar as absorbâncias das amostras, padrão e soro controle (S.C.) contra o branco do reagentes a 560nm (540 - 580nm).  
Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

## Cálculos:

(Abs.=Absorbância)  
(Conc. = Concentração)

$$\text{Ferro da Amostra} = \frac{\text{Abs. Amostra} - \text{Abs. Branco Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{Conc. do Padrão}$$

## Exemplo:

Abs. Amostra = 0.080  
Abs. Branco da Amostra = 0.005  
Abs. Padrão = 0.134  
Conc. Padrão = 200µg/dL

$$\text{Ferro Amostra} = \frac{0.080 - 0.005}{0.134} \times 200$$

Ferro Amostra = 0.559 x 200  
Ferro Amostra = 112 µg/dL

Obs: µg/dL x 0.179 = mmol/L

## Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1000 µg/dL.

Amostras com valores superiores a 1000 µg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0 - 1000 µg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

## Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

## Valores Esperados:

Masculinos: 65 - 175 µg/dL  
Femininos: 50 - 170 µg/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

## Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de Amostras:	40	
Intervalo dos resultados	50,5 - 223,6 µg/dL	
Coefficiente de Correlação:	0,995	
Inclinação:	1,03	
Intercepta:	1,25 (µg/dL)	

## Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (µg/dL)	96,3	359
D.P. (µg/dL)	1,9	2,2
C.V. (%)	2,1	5,3

## Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (µg/dL)	91,7	323,2
D.P. (µg/dL)	4,2	4,9
C.V. (%)	2,1	3,4

## Sensibilidade Metodológica:

6 µg/dL

## Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

## Observações:

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- O material empregado no procedimento, deve estar completamente isento de ferro. É aconselhável utilizar material descartável ou lavado com ácido nítrico a 50% (v/v).
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

## Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: R1=8x10mL + R2=2x10mL + P=1x1,0mL  
Linha SAT450: R1= 2 x 40mL + R2= 1 x 20mL  
Linha Bulk: R1= 1 x 200mL + R2= 1 x 50mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebtram.com ou www.ebram.com.

## Referência Bibliográfica:

- Stokey LL. Anal Chem 1970; 42: 779 - 81.
- Itano M. A. J. Clin. Pathol. 1978; 70: 516 - 22
- Artiss JD, Vinogradov S. Zak B. Clin. Biochem 1981; 14:311-15
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition, Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997
- Arquivos da EBRAM.



### APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

<b>GENERAL</b>	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S-SR1
Calibration Mode:	SLOPE AVG
Reagent Blank:	REAG/DIL
Cleaner:	BEFORE
Wavelength:	550NM
Decimal Position:	0
Unit:	u/dL
<b>ANALYSIS</b>	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name:
Post Dil Factor: NO	Conc. Factor: NO
Sample:	Circle: 1
Volume:	Dil: 20
Reagent:	Circle: 1
Volume:	Dil: 170
Start Reagent 1:	Circle: 2
Volume:	Dil: 40
Start Reagent 2:	Circle: 20
Volume:	Dil: 40
<b>CALCULATION</b>	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.0000
Offset:	0.0000
Test Range Low:	0
High:	1000
Norm Range Low:	50
High:	175
Number of Slans:	1
Calculation Stan A:	ENDPOINT
Readings First:	1
Last:	21
Reaction Limit:	
Point:	
Calib. Interval:	
<b>CALIBRATION ON REQUEST</b>	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low: NO	Blank Range Low: -0.0300
High: NO	High: 0.0300
Factor:	
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	(**)
STD2:	STD2:
STD3:	STD4:
STD4:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc. Model:	
Correction STD:	
Replicate:	DUPL
Deviation:	5%
<b>CONTROL</b>	
CS1 -	
CS2 -	
CS3 -	

(\* ) Informação inserida pelo operador  
 (\*\* ) Inserir a concentração do calibrador  
 (\*\*\*)

### APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name:	IRON	Test:			
Test Bar Code:		Curve Type:	Blanked Linear		
Test Type:	End Point	Units:	u/dL		
Primary Wavelength:	570	Nº of Decimal Places:	0		
Secondary Wavelength:		Sample Blank:	Yes		
Read Time Interval:	20	Factor:			
Calibration Interval:	999 hours	Normalization Interval:			
Nº of Calibrators:	2	Nº of Replicates:	2		
Low Blank A Limit:	0.020	High Blank A Limit:	2.000		
Low A Limit:	0.005	High A Limit:	2.000		
Low Normal:	55	High Normal:	155		
Linearity Limit:	1000	Curve S.D. Limit:	8.0		
Test Name:	IRON	Test:			
Test Bar Code:		Sample Volume:	30ul		
Sample Diluent:	*	Sample Dilution Ratio:	1		
Reagent Dilution:		Reagent Dilution:			
Reagent 1:	240ul	Bar Code:	YF1A	Diluent Volume:	30
Reagent 2:	60ul	Bar Code:	YF2A	Diluent Volume:	550
Reagent 3:					
Reagent 4:					
<b>Controls:</b>					

Não deve-se utilizar um reagente de trabalho

Ebram Prods.Laboratoriais Ltda@.  
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho  
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001  
 Tel.: (11) 2291-2811  
 Indústria Brasileira  
 CNPJ: 50.657.402/0001-31  
 www.ebram.com  
 sac@ebram.com  
 SAC.: (11) 2291-2811  
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen  
 CRF-SP - 37.451  
 Nº do Reg. MS: 10159820110  
 Edição: Abr/2019

### APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	Ferro
Abbr. Name:	Ferro
Mode:	TwoPoint
Wavelength:	546nm
Units:	u/dL
Decimals:	0
Low Conc:	0
High Conc:	1000
Calibrator Name:	(*)
Reagent:	3
Number:	1
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	No
Prozone Check:	No
Ref Male Low:	65
Ref Male High:	175
Ref Female Low:	50
Ref Female High:	170
Ref Pad Low:	
Ref Pad High:	
Control 1:	
Control 2:	
Control 3:	
Complet Factor:	1.000
Complet Offset:	0.000
<b>DUAL MODE</b>	
Name:	Ferro
Sample Blank:	No
R1 Bottle:	
Normal Volume:	200
Rerun Volume:	200
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	30
Rerun Volume:	30
R2 Bottle:	
Normal Volume:	50
Rerun Volume:	50
Predilution:	No
Slope Blank:	No
Delay Min Time:	-3.238 sec
Linearity Limit:	10%
Point One, Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	0.150
Substr. Depletion:	3.000
Reagent Blank:	
R ABS Deviation:	Yes
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	
<b>MONO MODE</b>	
Name:	
Sample Blank:	
R1 Bottle:	
Normal Volume:	
Rerun Volume:	
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	
Rerun Volume:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	
Incubation Time:	
Point One, Two:	
Low Absorbance:	
High Absorbance:	
R ABS L Limit:	
R ABS H Limit:	
Substr. Depletion:	
Reagent Blank:	
R ABS Deviation:	
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	

(\* ) Informação inserida pelo operador  
 (\*\* ) Inserir a concentração do calibrador  
 (\*\*\*)  
 (#) Não deve-se utilizar um reagente de trabalho

### APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	Ferro
Point Final:	u/dL
Units:	Monocromática
Mode:	LeLum:
Filter:	562
Tempo Estab:	
Factor:	3
Tempo de Incubação:	
Tempo de Interação:	
Nº de Interações:	
Temperatura:	37 C
Volume Amostral:	900
Tempo Reação:	Crescente
Estandart:	**

### APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Point Final
LeLum:	Monocromática
Filter:	562
Temperatura:	37 C
Volume Amo:	900
Units:	u/dL
Line Lin:	1000
Inclinação:	
Cálculo:	Padrão
Padrão:	**
Factor:	
Delay Inicial:	
Quant Intery:	
Tempo Intery:	
Tempo Estab:	4.000

### APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	Point Final
WLI:	546
Blank:	Sim
Blk Amoa Pad:	Sim / Não
Tempo:	37 C
Vol Amoal:	900
Ref:	3
Pad:	
Padrão:	Sim
Pad:	Única
Unit:	**
Dec:	u/dL
Int Clin:	0
nº Int:	
AMIN:	
%Lim Lin:	
Dir:	
Lim Lin - Min/Max:	0000 / 1000
Abs. Real - Min/Max:	0.0 / 1.0
Abs. Pad - Min/Max:	0.0 / 1.0
Vol/Vn - Min/Max:	50 / 175

### APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	IRON
Immunossay:	No
Chemistry Type:	Endo/ml
Bi. Type:	
Immuno Chemistry:	NO
% Sample Volume:	60 (300ul)
Wavelength:	550
Bichromatic Chemistry:	NO
Bichromatic Factor:	
K1:	
K2:	
Bi Limit 1:	
Bi Limit 2:	
Detection Limit:	
Delay Time:	4.00
Blank Type:	Default
Incubation:	
% Reagent Volume:	60 (300ul)
2nd Reagent:	Yes
2nd Reagent Volume:	15 (75ul)
A2 Delay:	4.00
Units:	mg/dL
Unit Factor:	1.000
Decimal Point:	0
RBL Low:	0.000
RBL High:	1.000
Range Low:	0.00
Range High:	1000
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	0
Standard Value:	(**)
Normal Low:	55
Normal High:	155
Interval:	1.00
C1*10E-6:	0.00
C2*10E-6:	
D1*10E-6:	
Delay:	
Linear Factor:	
Final Limit:	
EndoLin Limit:	1.000

(\* ) Informação é determinada a partir da calibração  
 (\*\* ) Inserir a concentração do padrão

### APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit:	ug/dl	Decimals:	1	Reaction Type:	End Point				
Volume (ul):		Serum:	50	Plasma:	50	Urine:			
Range (m Abs):		Reagent 1:	320	Reagent 2:	80				
Linearity Limit:		Min:	-1.00	Max:	2.000				
Contaminating:		YES		Reagent Blanking:	YES				
Filter 1:		546		Filter 2:	None				
Time (sec):		Mix 1:	0:00	Incubation 1:	1:10	Lag Phase:	2		
		Mix 2:	0:00	Incubation 2:	3:00	Measure:	1		
Measurement Type:	Standard			Factor:	0.00				
Normal Range:									
Age (yrs):		Min:		Max:		Min:		Max:	
Below 10:									
From 10 to 60:		55		155		55		155	
Over:									

Disponos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.