



QUIMIFER - Ferro Ferrozina

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 560nm.

Metodologia:

Ferrozina

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 H₂O₂ 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 rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI. 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 se o reagente apresentar turbidez, presença de precipitado e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

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

Amostra:

Soro ou plasma (colhido com heparina). O ferro no soro ou plasma é estável por 3 semanas se mantido entre 2 - 8°C. Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, 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 interferir no resultado
Lipemia > 1.25 g/L pode interferir no resultado e Bilirrubina < 40mg/dL não interfere 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 calibrador e no padrão são rastreáveis ao método de referência proposto pelo CLSI.

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.

1. Conduzir o reagente à temperatura ambiente
2. 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

3. Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos à temperatura ambiente.
4. Registrar as absorvâncias dos brancos de amostra a 560nm (540 - 580nm) contra a água destilada.
5. Registrar as absorvâncias 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)

Ferro da Amostra = $\frac{\text{Abs. Amostra} - \text{Abs. Branco Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{Conc. do Padrão}$ (µg/dL)

Exemplo:

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

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
Coeficiente 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:

2.69 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:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. O material empregado no procedimento, deve estar completamente isento de ferro. É aconselhável utilizar material descartável, lavar com ácido ou fazer uso de tubos plásticos.
3. 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 $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilize água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: R1=8x10mL + R2=2x10mL + P=1x1,0mL
Linha Hitachi 917: R1= 3 x 65mL + R2= 1 x 50mL
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@ebram.com ou www.ebram.com.

Referência Bibliográfica:

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



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL		
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	
ANALYSIS		
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:		170
Start Reagent 1:	Circle:	2
Volume:	Dil:	20
Start Reagent 2:	Circle:	
Volume:	Dil:	
CALCULATION		
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 Steps:	1	
Calculation Step A:	ENDPOINT	
Readings First:	1	
Last:	21	
Reaction Limit:		
Point:		
Calib. Interval:		
CALIBRATION		
Reagent Blank:		
Reagent Range:		
Reagent Range Low: NO	Blank Range Low: -0.0300	
High: NO	High: 0.0300	
Factor:		
Calibrator Pos:	(*)	
STD1:	STD2:	(**)
STD3:	STD4:	
STD5:	STD6:	
STD7:	STD8:	
Calc. Model:		
Correction STD:		
Replicate:	DUPL	
Deviation:	5%	
CONTROL		
CS1 -		
CS2 -		
CS3 -		

(*) Informação inserida pelo operador

(**) Inserir a concentração do calibrador

(***)

Não deve-se utilizar o reagente de trabalho

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: IRON	Test:			
Test Bar Code:				
Test Type: End Point	Curve Type: Blankd Linear			
Unit: u/dl	Nº of Decimal Places: 0			
Primary Wavelength: 570	Secondary Wavelength:			
Read Time Interval: 20	Sample Blank: Yes			
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: *			
Rerun Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	240ul	YF1A		30
Reagent 3	60ul	YF2A		550
Reagent 4				
Controls:				

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: out/2017

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	Ferro
Abbr Name:	Ferro
Mode:	TwoPoint
Wavelength:	546nm
Unit:	u/dL
Decimals:	0
Low Conc:	0
High Conc:	1000
Calibrator Name:	(*)
Repeat:	3
Number:	1
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	No
Prozone Check:	No
Ref Male Low:	85
Ref Male High:	175
Ref Female Low:	50
Ref Female High:	170
Ref Pad Low:	
Ref Pad High:	
Control 1:	
Control 2:	
Control 3:	
Correlat Factor:	1.000
Correlat Offset:	0.000

DUAL MODE

Name:	Ferro
Sample Blank:	No
R1 Bottle:	
Normal Volume:	200
Rerun Volume:	200
SAMPLE	
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:	

MONO MODE

Name:	
Sample Blank:	
R1 Bottle:	
Normal Volume:	
Rerun Volume:	
SAMPLE	
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:	
Unit:	u/dL
Mode Label:	Monocromática
Filter:	562
Tempo Estab:	3
Tempo de Incubação:	
Tempo de Intervalo:	
Nº de Intervalos:	
Temperatura:	37 C
Volume Análise:	800
Tempo Resposta:	Consente
Estandart:	**

APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Point Final
Label:	Monocromática
Filter:	562
Temperatura:	37 C
Volume Anál:	800
Unit:	u/dL
Limite Lin:	1000
Incubação:	
Check:	
Padão:	**
Factor:	
Delay Inicial:	
Quant Inicial:	
Tempo Inicial:	
Tempo Estab:	4 seg

APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	Point Final
WL1:	546
Blank:	Sim
Blk Area Pad:	Sim / Não
Temp:	37 C
Vol Anál:	900
Ref:	3
Factor:	
Padão:	Sim
Unit:	u/dL
Unit:	**
Unit:	u/dL
Dev:	0
Int Clin:	
nº In:	
dAMIN:	
%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/In - Min/Max:	50 / 175

APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	IRON
Immunoassay:	no
Chemistry Type:	Endpoint
Bio Item:	
Immuno Chemistry:	NO
% Sample Volume:	60 (300ul)
Wavelength:	650
Biochemical Chemistry:	NO
Biochemical Factor:	
K1:	
K2:	
Re Limit 1:	
Re Limit 2:	
Depletion Limit:	
Delay Time:	4.00
Blank Type:	Default
Incubate:	
% Reagent Volume:	60 (300ul)
2nd Reagent:	Yes
2nd Reagent Volume:	15 (75ul)
A2 Delay:	4.00
Unit:	u/dL
Unit Factor:	1.000
Decimal Point:	0
RBI Low:	0.000
RBI High:	1.000
Range Low:	0.00
Range High:	1000
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	0
Standard Value:	(**)
Normal Low:	55
Normal High:	155
Slope:	1.00
Intercept:	0.00
C1*10E6:	
C2*10E6:	
D1*10E6:	
Delta R:	
Linear Factor:	
Final Limit:	
Endpoint 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 (u):		Serum:	50	Plasma:	50	Urine:	
Abs Range (n Abs):		Reagent 1:	320	Reagent 2:	80		
Linearity Limit:		Min:	-100	Max:	2.000		
Continualing:		YES		Reagent Blankng:	YES		
Filter 1:		546		Differential:	YES		
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.