



QUIMIFER - Ferro

Ferrozina

REG. MS: 10159820244

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho

São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811

CEP 03059-001 | Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110

sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão: Agosto/2023

FINALIDADE. Reação colorimétrica para determinação quantitativa de ferro em amostras de soro e plasma. 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. 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 pode ser causada por uma dieta pobre em ferro ou por absorção intestinal diminuída de ferro.

Foi sugerido que o ferro inorgânico livre pode promover a formação de radicais de oxigênio reativos, particularmente a conversão de H_2O_2 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 mol/L e tampão acetato 0,4 mol/L, pH 4,0.

Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Ferrozina 8 mmol/L e ácido ascórbico 200 mmol/L. Reagente volátil: manter o frasco do R2 em uso fechado e sob refrigeração 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 à 2 - 8°C.

Padrão (cód 3036): conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa contendo íons de ferro com concentração de ferro rastreável 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.
- Cronômetro.

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

INTERFERÊNCIAS. Soros hemolisados não poderão ser usados pois hemoglobina interferir 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 código 3036. A concentração de ferro no Quimicalib é rastreável ao NIST 909c/NIST SRM 937 e no padrão ao 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.

7. Conduzir o reagente à temperatura ambiente

8. Separar 4 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco Reagente	Branco Amostra	Amostra/S.C.	Padrão
Água destilada	200µL	-	-	-
Amostra / S.C.	-	200µL	200µL	-
Padrão	-	-	-	200µL
Reagente 1	-	1,0mL	-	-
Reagente de trab.	1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL

Nota: Realizar a incubação das amostras, calibrador e soro controle (S.C.) individualmente.

9. Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos à temperatura ambiente.

10. Registrar as absorbâncias dos brancos de amostra a 560nm (540-580nm) contra a água destilada.

11. Registrar as absorbâncias das amostras, padrão e soro controle (S.C.) contra o branco dos 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 ($\mu\text{g/dL}$) =

$$\frac{\text{Abs. Amostra} - \text{Abs. Branco Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{concentração Padrão } (\mu\text{g/dL})$$

EXEMPLO:

Abs. Amostra = 0.080
Abs. Branco da Amostra = 0.005 Abs. Padrão = 0.134
Conc. Padrão = 200 $\mu\text{g/dL}$

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

Ferro Amostra = 0.559 x 200
Ferro Amostra = 112 $\mu\text{g/dL}$

Obs: $\mu\text{g/dL} \times 0.179 = \text{mmol/L}$

LINEARIDADE. Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1000 $\mu\text{g/dL}$. Amostras com valores superiores a 1000 $\mu\text{g/dL}$ devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficar entre 6 - 1000 $\mu\text{g/dL}$ 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.

Caninos: 30 - 180 $\mu\text{g/dL}$
Felino: 68 - 215 $\mu\text{g/dL}$
Bovinos: 57 - 162 $\mu\text{g/dL}$
Equinos: 73 - 140 $\mu\text{g/dL}$

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	89
Intervalo dos resultados	16,76 - 268,17 $\mu\text{g/dL}$
Coefficiente de correlação	0.9957
Inclinação	0,97
Intercepta	1,34 ($\mu\text{g/dL}$)

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

N=10	Nível 1	Nível 2
Média ($\mu\text{g/dL}$)	96,3	359
D.P. ($\mu\text{g/dL}$)	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 ($\mu\text{g/dL}$)	91,7	323,2
D.P. ($\mu\text{g/dL}$)	4,2	4,9
C.V. (%)	2,1	3,4

SENSIBILIDADE METODOLÓGICA. 6 $\mu\text{g/dL}$

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 ou lavado com ácido nítrico a 50% (v/v).
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 enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

APRESENTAÇÃO.


Linha Bioquímica Geral: R1=8x10mL + R2=2x10mL + P=1x1,0mL

Linha Bulk: R1= 1 x 200mL + R2= 1 x 50mL

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, 2 nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Press, 1997
6. Arquivos da EBRAM.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO
 USO VETERINÁRIO		