

QUIMIFER - Ferro

Ferrozina

ANVISA: 10159820244



Finalidade

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de ferro em amostras de soro e plasma animal. 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 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

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância 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. Cronômetro.

Amostra

O ferro em amostras de soro ou plasma heparinizado é estável por 7 dias se mantida 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

Cães e Gatos

Jejum recomendado é de 8 a 12 horas (bioquímica) e em filhotes de 4 a 6h podendo beber água. Deixar em repouso por 30 minutos.

Bovinos

Jejum geralmente não obrigatório. Evitar estresse pois pode alterar o lactato.

Equinos

Jejum geralmente não obrigatório. Evitar estresse pois pode alterar o lactato.

Aves

Jejum recomendado de 2 a 4 horas. Evitar estresse do animal.

Mamíferos pequenos

Jejum geralmente não recomendado. Evitar estresse do animal.

Interferências

Soros hemolisados não poderão ser usados pois hemoglobina pode 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 cód 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.

1. Conduzir o reagente à temperatura ambiente
2. 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

- Nota: Realizar a incubação das amostras, calibrador e soro controle (S.C.) individualmente.
3. Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos à temperatura ambiente.
 4. Registrar as absorbâncias dos brancos de amostra a 560nm (540 580nm) contra a água destilada.
 5. 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)

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

Exemplo:

Abs. Amostra = 0,080
Abs. Branco da Amostra = 0,005 Abs. Padrão = 0,134
Conc. Padrão = 200µg/dL

$$\frac{\text{Ferro Amostra} = 0,080 - 0,005}{0,134} \times 200$$

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 6 - 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 Quimi-control Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados

Caninos: 30 - 180 µg/dL
Felino: 68 - 215 µg/dL
Bovinos: 57 - 162 µg/dL
Equinos: 73 - 140 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	89
Intervalo dos resultados	16,76 - 268,17 µg/dL
Coefficiente de correlação	0,9957
Inclinação	0,97
Intercepta	1,34 (µg/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 (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 purificada). Para o enxágue da vidraria a água pode ser purificada, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final também utilizar água purificada.

Apresentação









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

Referência Bibliográfica

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

Revisão: Fevereiro de 2026

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				

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

SAC Ebram

Para mais informações, entrar em contato com o SAC 0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110
sac@ebram.com | ebram.com.br

