



## 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 (µg/dL) =

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

### EXEMPLO:

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

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  $\geq 1$  mega ohm ou condutividade  $\leq 1$  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  $\leq 10$  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. AACC 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		