

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIFER - FERRO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	---	-------------------------------

USO

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 é unido à transferrina é liberado por ação do guanidínio e reduzido a íon ferroso pela hidroxilamina. 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 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 gastrintestinal. 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_2O_2 em radicais hidroxila altamente reativos. A maior formação de radicais de oxigênio favorece a oxidação da LDL (lipoproteína de densidade baixa).

PRODUTO UTILIZADO

QUIMIFER – FERRO MS: 10159820244

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

REAGENTES

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Cloreto de guanidinio 1.0 mmol/L; tampão acetato 0.4 mmol/L em Ph 4.0.

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 Material de Referencia Padrão proposto pelo NIST 937. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis ate a data de vencimento impressa no rotulo 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.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIFER - FERRO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--	---	---------------------------------------

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

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 560nm, ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

AMOSTRA

O ferro em amostras de soro ou plasma heparinizado e 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.

Preparo do Paciente:

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

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 560nm (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.

PROCEDIMENTO

• Procedimento automático:

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 semiautomático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual ate 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 a temperatura ambiente.
2. Separar 4 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo.

	Branco Reagente	Branco Amostra	Amostra/S.C.	Calibrador
Água destilada	200µL	-	-	-
Amostra/S.C	-	200µL	200µL	-
Calibrador	-	-	-	200µL
Reagente R1	-	1,0 mL	-	-
Reagente de Trabalho	1,0 mL	-	1,0 mL	-

3. Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a temperatura ambiente.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIFER - FERRO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	---	-------------------------------

4. Registrar as absorbâncias dos brancos de amostra a 560nm (540 - 580nm) contra a agua 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 influencia no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostras menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS

(Abs.= Absorbância)

(Conc. = Concentração)

$$\text{Ferro da Abs.} \quad \text{Amostra - Abs.Branco Amostra} \quad \text{Conc.do} \\ \text{Amostra} \quad = \frac{\text{Abs.Padrao}}{\text{Abs.Branco Amostra}} \times \text{Padrao} \\ (\mu\text{g/dL}) \qquad \qquad \qquad (\mu\text{g/dL})$$

RESULTADOS

Masculinos: 65 - 175 µg/dL

Femininos: 50 - 170 µg/dL

Estes valores são dados unicamente como titulo orientativo. É recomendado que cada laboratorio estabeleça seu próprio intervalo de referencia.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

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

Amostras com valores superiores a 1000µg/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.

Sensibilidade: 6µg/dL

- **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 ate 2 a 4 semanas seguidas da administração oral de 600mg de ferro succinato causa aumento triplo de ferro sérico no prazo de 3 horas.

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

OBSERVAÇÕES

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A agua utilizada no laboratorio 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 (agua tipo II). Para o enxague da vidraria a agua pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ mega ohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIFER - FERRO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	---	-------------------------------

REFERÊNCIAS

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.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

VER: Junho/21