



Fer-color

AA

Método colorimétrico direto para a determinação de ferro em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

O ferro encontra-se distribuído no organismo em diferentes formas que incluem: hemoglobina, ferro tissular e mioglobina. O transporte de ferro de um órgão a outro realiza-se mediante uma proteína transportadora: a apotransferrina.

O complexo formado com o ferro é conhecido como transferrina.

A ferritina, localizada em quase todas as células do corpo, constitui uma reserva de ferro disponível para a formação da hemoglobina e outras proteínas que contêm o grupo hemo. A absorção de ferro é realizada principalmente no duodeno. Tanto a ferritina como a transferrina encontram-se nas células da mucosa intestinal e ambas regulam a absorção de ferro.

Os mais grandes desordens do metabolismo de ferro relacionam-se com a deficiência ou excesso. No entanto, observam-se alterações em muitas outras doenças como anemia, doenças cardiovasculares, hepatite crônica, doenças renais e infecções.

A anemia por perda de ferro representa um dos transtornos orgânicos mais freqüentes, principalmente em crianças, mulheres jovens, grávidas e idosos. Também constituem causas de anemia ferropênica as úlceras gástricas ou duodenais e carcinoma de estômago.

Por outra parte, o excesso de ferro associa-se com outros desordens como hemossiderose, hemocromatose e anemia sideroblástica.

FUNDAMENTO DO MÉTODO

O ferro sérico libera-se de sua ligação com sua proteína transportadora específica, a transferrina, tampão acetato de pH 4,5 e em presença de um redutor, o ácido ascórbico. Depois reage com o reagente de cor, piridil bis-fenil triazina sulfonato (ferrozina) obtendo-se um produto de cor magenta, que se mede a 560 nm.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução de acetato 150 mmol/l para pH 4,5 contendo guanidina.

B. Reagente B: ácido ascórbico.

C. Reagente C: solução estabilizada de ferrozina.

S. Padrão: solução de íons Fe (III) equivalem a 100 ug/dl.

Concentrações finais

Acetato	150 mmol/l, pH 4,5
Ferrozina	0,2 mmol/l
Ácido ascórbico	0,03 mol/l
Guanidina	4,0 mol/l

REAGENTE NÃO FORNECIDO

- **Calibrador A plus** da Wiener lab.

- Água destilada.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente C: pronto para uso.

Padrão: pronto para uso.

Reagente de Trabalho: transferir ao frasco de Reagente B a quantidade de Reagente A indicada no rótulo. Colocar a data de preparo.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulamentação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob temperatura ambiente (< 25°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Reagente de Trabalho: é estável por 3 meses a contar da data de sua preparação conservado sob refrigeração (2-10°C) ou por 10 dias sob temperatura ambiente (18-25°C).

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Variações nas leituras de Brancos de Reagentes e/ou Padrão, são indícios de contaminações ocasionais (água, material de vidro, etc.). Aumento no valor dos Brancos indicará uma contaminação com ferro.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: o paciente deve estar em jejum, sendo que as extrações devem ser realizadas sempre na mesma hora (preferencialmente de manhã) já que as oscilações fisiológicas são muito importantes durante o dia.

b) Aditivos: se a amostra é plasma deverá utilizar-se heparina como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observa interferência pela hemoglobina até 90 mg/dl, bilirrubina até 15 mg/dl, nem heparina até 50 UI/ml.

Amostras lipêmicas podem levar a resultados errôneos.

Níveis de triglicérides de 3,72 g/l produzem interferências. Embora hemólises ligeiras não interferem com este método,

o International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) recomenda a utilização de soro livre de hemólise. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: o soro e o plasma heparinizado podem ser conservados até uma semana sob refrigeração (2-10°C).

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos ou cubetas espectrofotométricas.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 560 nm em espectrofotômetro ou 540-560 nm em fotocolorímetro com filtro verde.
- Temperatura de reação: temperatura ambiente
- Tempo de reação: 5 minutos
- Volume de amostra: 200 ul
- Volume total de reação: 1,4 ml

PROCEDIMENTO

Em três tubos marcados B (Branco de Reagente), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Água bidestilada	200 ul	-	-
Padrão	-	200 ul	-
Amostra	-	-	200 ul
Reagente de Trabalho	1 ml	1 ml	1 ml

Misturar. Ler a absorbância do tubo D (Branco de Soro BS) em espectrofotômetro a 560/580 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (540/560 nm) levando a zero o aparelho com água. Depois adicionar:

Reagente C	200 ul	200 ul	200 ul
------------	--------	--------	--------

Misturar imediatamente. Voltar a ler cada tubo em 5 minutos, levando o aparelho a zero com água.

ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

Os tubos devem ser lidos entre 5 e 60 minutos após completados os passos do procedimento.

CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Corrigir as leituras de P e D, subtraindo os Brancos correspondentes:

$P - B = P$ corrigido

$D - (B + BS) = D$ corrigida

Fe (ug/dl) = D corrigida $\times f$

$$\text{onde: } f = \frac{100 \text{ ug/dl}}{P \text{ corrigido}}$$

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar dois níveis de um material de controle de qua-

lidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de ferro, com cada determinação.

VALORES TEÓRICOS

Homens: 65 a 175 ug/dl (11,6-31,3 umol/l)

Mulheres: 50 a 170 ug/dl (9-30,4 umol/l)

VALORES DE REFERÊNCIA

Em um grupo de 20 mulheres e 20 homens sadios, com idades entre os 18 e 51 anos, foram encontradas faixas de 55 a 175 ug/dl* com as seguintes médias:

Homens: 114,6 ug/dl (20,5 umol/l)

Mulheres: 103,3 ug/dl (18,5 umol/l)

*Valores de referência extraídos de arquivos da Wiener lab. É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Ferro (ug/dl) $\times 0,179$ = Ferro (umol/l)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Valores de Branco aceitável: a determinação de oligoelementos comprometem as possíveis contaminações de água e os reagentes. O Branco de Reagente, realizado segundo o Manual de Instruções, não deve superar 0,150 D.O. devendo ser ainda desprezível a contribuição de água no Branco. Para poder ser controlado, recomenda-se o uso de água de qualidade comprovada (condutibilidade menor a 0,02 uOhms).
- Limpeza do material: todo o material do laboratório utilizado deve estar livre de ferro, submergindo-o durante 6 horas em HCl p.a. 10-15%, eliminando a acidez com vários lavados com água livre de ferro. Enxugar o material perfeitamente à temperatura não superior a 80°C em cesto de aço inoxidável ou recoberto com plástico. Todo o material deve ser utilizado só para a determinação de ferro.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando duplicatas das mesmas amostras no mesmo dia, foram obtidos os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
146,5 ug/dl	$\pm 1,93$ ug/dl	1,32 %
324,6 ug/dl	$\pm 1,76$ ug/dl	0,54 %

Processando a mesma amostra em diferentes dias, obteve-se o seguinte:

Nível	D.S.	C.V.
142,8 ug/dl	$\pm 2,50$ ug/dl	1,75 %
314,0 ug/dl	$\pm 3,93$ ug/dl	1,25 %

b) Recuperação: adicionar quantidades conhecidas de Fe (II) a alíquotas de um mesmo soro, recuperou-se entre 90 e 103%.

c) Linearidade: a reação é linear até 1000 ug/dl.

d) Limite de detecção: 6,05 ug/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador

a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar **Calibrador A plus** da Wiener lab., segundo os requerimentos do analisador.

APRESENTAÇÃO


- 5 x 20 ml (Cód. 1492003).

REFERÊNCIAS

- Dixon, K. - Ann. Clin. Biochem. 10/5:127 (1973).
- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543 (1971).
- Zak, B.; Baginski, E.S.; Epstein, E. y Wiener, L.M. - Clin. Toxicol. 4/4:621 (1971).
- Rojkin, M.L.; Olguín de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Albarracín, A. - III Congreso Argentino de Bioquímica - Buenos Aires (1975).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.


SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes


 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar


 Risco biológico

 Volume após da reconstituição

 Conteúdo


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico


 Irritante


 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina