



# 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 regulação 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 x  $f$

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

#### 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) x 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	± 1,93 ug/dl	1,32 %
324,6 ug/dl	± 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	± 2,50 ug/dl	1,75 %
314,0 ug/dl	± 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", AACCPress, 4<sup>th</sup> 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