

COD 11509 4 x 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Reagentes para medir a concentração de ferro Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos



FUNDAMENTO DO MÉTODO

O ião férrico presente na amostra e unido à transferrina é libertado por acção do guanidínio e reduzido a ferroso pela hidroxilamina. O ião ferroso forma um complexo colorido com a ferrozina que se quantifica por espectrofotometria^{1,2,3}.

CONTEÚDO E COMPOSIÇÃO

A. Reagente. 4 x 40 mL. Cloreto de guanidínio 1,0 mol/L, hidroxilamina 0,3 mol/L, tampão acetato 0,4 mol/L, pH 4,0.

B. Reagente. 4 x 10 mL. Ferrozina 8 mmol/L.

S. Padrão de Ferro. 1 x 5 mL. Ferro 200 µg/dL (35,8 µmol/L). Padrão primário aquoso.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C.

Os Reagentes e o Padrão são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagentes: Presença de partículas, turvação, absorvância do branco superior a 0,050 a 560 nm.
- Padrão: Presença de partículas, turvação.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Padrão (S): Está pronto para o seu uso.

Reagente de Trabalho: Despejar o conteúdo do frasco do Reagente B no frasco do Reagente A. Homogeneizar. Se desejar preparar outros volumes, misturar na proporção: 1 mL de Reagente B + 4 mL de Reagente A. Estável 6 meses a 2-8°C.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Analisador, espectrofotómetro ou fotómetro para leituras a 560 ± 20 nm.

AMOSTRAS

Soro ou plasma heparinizado recolhidos mediante procedimentos standard.

O ferro em soro ou plasma heparinizado é estável 7 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

- Conduzir o Reagente à temperatura ambiente
- Pipetar em tubos de ensaio: (Notas 1, 2)

	Branco Reag.	Branco Amostra	Amostra	Padrão
Água destilada	200 µL	—	—	—
Amostra	—	200 µL	200 µL	—
Padrão de Ferro (S)	—	—	—	200 µL
Reagente (A)	—	1,0 mL	—	—
Reag. de Trabalho	1,0 mL	—	1,0 mL	1,0 mL

- Agitar bem e deixar durante 5 minutos à temperatura ambiente.
- Ler a absorvância (A) dos Brancos de Amostra a 560 nm contra a água destilada.
- Ler a absorvância (A) das Amostras e do Padrão contra o Branco dos Reagentes a 560 nm.

CÁLCULOS

A concentração do ferro na amostra calcula-se a partir da seguinte fórmula geral:

$$\frac{A_{\text{Amostra}} - A_{\text{Branco da Amostra}}}{A_{\text{Padrão}}} \times C_{\text{Padrão}} = C_{\text{Amostra}}$$

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro e plasma⁴

Homens: 65 - 175 µg/dL = 11,6 - 31,3 µmol/L
 Mulheres: 50 - 170 µg/dL = 9,0 - 30,4 µmol/L

Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controle de Bioquímica níveis I (Cod. 18005 e 18009) e II (Cod. 18007 e 18010) para verificar a funcionalidade do procedimento de medida.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Controle de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como nos casos em que os controlos não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Limite de detecção: 4 µg/dL ferro = 0,71 µmol/L ferro
- Limite de linearidade: 1000 µg/dL ferro = 179 µmol/L ferro. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/2 com água destilada e repetir a medição.
- Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média de ferro	CV	N
103 µg/dL = 18,4 µmol/L	2,2 %	20
305 µg/dL = 54,6 µmol/L	0,7 %	20

- Reproductibilidade (interensaio):

Concentração média de ferro	CV	n
103 µg/dL = 18,4 µmol/L	2,9 %	25
305 µg/dL = 54,6 µmol/L	2,2 %	25

- Sensibilidade: 88 mA·dL/µg = 4,86 mA·L/µmol
- Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência (Nota 3). Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.
- Interferências: A bilirrubina (< 20 mg/dL) não interfere. A hemólisis e a lipemia (triglicéridos >15 g/L) interferem. Outros medicamentos e substâncias podem interferir⁵.

Estes dados foram obtidos utilizando um analisador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

O ferro está distribuído no organismo em diferentes compartimentos: hemoglobina, mioglobina, tisular (principalmente no fígado, baço e medula óssea). Somente 0,1% do ferro total do organismo se encontra no plasma.

A concentração sérica do ferro é afectada por numerosas condições fisiológicas ou patológicas. A variabilidade diária é bastante elevada em pessoas saudáveis.

As principais alterações do metabolismo do ferro são a deficiência de ferro e a sobrecarga de ferro. No entanto, também se pode encontrar alterações de ferro em diversas doenças.

O ferro sérico encontra-se aumentado em hemocromatosis, em envenenamento agudo por ferro, em cirrose activa ou hepatite aguda e como resultado de concentrações elevadas de transferrina^{4,6}.

A concentração de ferro no soro é diminuída em muitos mas não em todos os pacientes com anemia por deficiência de ferro e em alterações crónicas inflamatórias. A medição de ferro sérico não deve ser utilizada como prova para a identificação de uma deficiência de ferro^{4,6}.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um único teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

NOTAS

- Estes reagentes podem utilizar-se na maioria de analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.
- O material utilizado no procedimento deve estar completamente isento de ferro. Aconselha-se a utilizar material descartável ou lavado com ácido nítrico a 50 % (v/v).
- A calibração com o padrão aquoso pode causar declives, especialmente em alguns analisadores. Nestes casos, recomenda-se a calibração usando um padrão de base sérica (Calibrador de Bioquímica, cod. 18011).

BIBLIOGRAFIA

- Stokey LL. Ferrozine-A new spectrophotometric reagent for iron. *Anal Chem* 1970; 42: 779-81.
- Itano M. Serum Iron Survey. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 516-522.
- Artiss JD, Vinogradov S, Zak B. Spectrophotometric study of several sensitive reagents for serum iron. *Clin Biochem* 1981; 14: 311-315.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.