

FERRO SÉRICO

Instruções de Uso

Ref.: 38

MS 10009010014

Finalidade . Sistema para a determinação do ferro sérico em amostras de sangue com reação de ponto final.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . Os íons férrico são dissociados da transferrina por ação de um tampão de pH ácido e reduzidos a íons ferroso por ação da hidroxilamina.

Após a adição do Ferrozine® forma-se um complexo magenta brilhante cuja absorvância, medida entre 540 e 580 nm, é proporcional à quantidade de ferro na amostra.

Características do sistema . O sistema Ferro Sérico - Labtest associa simplicidade operacional e grande sensibilidade, permitindo um aumento de 20% no volume final da reação, com significativa redução do volume da amostra.

O método possui três características fundamentais para sua exatidão e precisão: excelente complexação do reagente cromogênico para uma medição colorimétrica adequada, eliminação da necessidade de desproteinização da amostra e uma excelente comparação com um método estabelecido, indicando exatidão e especificidade.

Os dados da recuperação e diluição da matriz indicam que o sistema apresenta uma correta exatidão metodológica e os estudos de replicação demonstram a robustez do desempenho no dia a dia.

O método proposto utiliza a técnica manual sendo facilmente aplicável à analisadores semi-automáticos capazes de medir uma reação de ponto final entre 540 e 580 nm.

Metodologia . Goodwin modificado.

Reagentes

1. [R1] - Tampão - Armazenar entre 15 - 25 °C.

Contém tampão 250 mmol/L pH 4,0, hidroxilamina 144 mmol/L.

2. [CAL] - Padrão 500 µg/dL - Armazenar entre 15 - 25 °C.

Após manuseio sugere-se armazenar bem vedado entre 2 - 8 °C, para evitar evaporação.

3. [R3] - Ferrozine® - Armazenar entre 15 - 25 °C.

Contém ferrozine 28 mmol/L.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições especificadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos à contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

A vidraria armazenada pode acumular resíduos que levam a obtenção de resultados falsamente elevados.

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes.

Não utilizar os reagentes quando mostrarem-se turvos ou com sinais de contaminação.

Material necessário e não fornecido

1. Banho-maria mantido à temperatura constante (37 °C).
2. Fotômetro capaz de medir, com exatidão, a absorvância entre 540 e 580 nm.
3. Pipetas para medir amostras e reagente.

Influências pré-analíticas . Fatores pré analíticos são hoje a causa mais importante de determinações incorretas do ferro sérico. A contaminação pode ocorrer na coleta, no transporte e no processamento da amostra. Estudos indicam que 60% dos erros ocorridos no ensaio são devidos a erros pré-analíticos.

A amostra deve ser colhida pela manhã para conseguir as condições ótimas de resultados porque as variações diurnas do ferro podem produzir reduções de até 30% nos resultados.

Idade, sexo, período de gestação, uso de contraceptivos orais e estrogênio alteram as concentrações de ferro.

O uso de detergente iônico para limpeza do material é outra fonte de contaminação com ferro.

Amostra

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para colheita, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Usar soro (sem hemólise) obtido em jejum. O analito é estável por 4 dias entre 15 - 25 °C e por 6 dias entre 2 - 8 °C.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las, deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança .

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Valores de bilirrubina até 19 mg/dL e triglicérides até 900 mg/dL não produzem interferências significativas.

Valores de bilirrubina maiores que 19 mg/dL e triglicérides maiores que 900 mg/dL produzem resultados falsamente elevados.

Procedimento

Ver observações 1, 2 e 3.

O material usado no procedimento deve estar livre da contaminação com ferro para evitar a obtenção de resultados incorretos.

Tomar 3 cubetas do fotômetro e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Tampão (Nº 1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Soro	----	0,25 mL	----
Padrão (Nº 2)	----	----	0,25 mL
Água deionizada	0,25 mL	----	----

Misturar e determinar a absorbância do teste em 560 nm ou filtro verde (540 a 580) acertando o zero com o branco. Obtém-se a absorbância A_1 .

	Branco	Teste	Padrão
Ferrozine® (Nº 3)	0,025 mL	0,025 mL	0,025 mL

Misturar e incubar em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos. O nível da água no banho deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 560 nm ou filtro verde (540 a 580) acertando o zero com o branco. A absorbância do teste será A_2 .

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,25 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado. Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculos se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica.

Cálculos . Ver linearidade

$$\text{Ferro } (\mu\text{g/dL}) = \frac{A_2 - A_1}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 500$$

Exemplo

$$A_1 \text{ do Teste} = 0,038$$

$$A_2 \text{ do Teste} = 0,132$$

$$\text{Absorbância do Padrão} = 0,490$$

$$\text{Ferro } (\mu\text{g/dL}) = \frac{0,132 - 0,038}{0,490} \times 500 = 96$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, pode-se utilizar o método do fator.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{500}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Ferro } (\mu\text{g/dL}) = (A_2 \text{ do Teste} - A_1 \text{ do Teste}) \times \text{Fator}$$

Exemplo

$$\text{Fator} = \frac{500}{0,490} = 1020$$

$$\text{Ferro } (\mu\text{g/dL}) = (0,132 - 0,038) \times 1020 = 96$$

Calibração

O padrão é rastreável ao Standard Reference Material (SRM) 937 do National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibrações manuais

Obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes ou quando o controle interno da qualidade indicar.

Linearidade

O resultado da medição é linear até 1000 $\mu\text{g/dL}$. Para valores maiores, diluir a amostra (1:5) com água deionizada, realizar nova medição e multiplicar o resultado obtido por 5.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e desvios da calibração. Sugere-se que as especificações para o coeficiente de variação e o erro total sejam baseadas nos componentes da variação biológica (VB)^{6,8,9}.

Sugere-se utilizar as preparações estabilizadas da linha Qualitrol - Labtest para controle interno da qualidade em ensaios de química clínica.

Intervalo de referência^{10,11} . Os intervalos devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, seus próprios intervalos de referência.

Ferro Sérico ($\mu\text{g/dL}$)

Recém Nascidos	100 - 250	
Lactente	40 - 100	
Pré escolar e escolar	50 - 120	
Adultos	Homem	65 - 170
	Mulher	50 - 170

Conversão . Unidades Convencionais ($\mu\text{g/dL}$) $\times 0,179 =$ Unidades SI ($\mu\text{mol/L}$).

Características do desempenho⁸

Exatidão . Em três amostras com concentrações de ferro iguais a 63, 216 e 389 µg/dL foram adicionadas quantidades diferentes do analito obtendo-se recuperações entre 95 e 103%. O erro sistemático proporcional médio obtido em um valor de 50 µg/dL foi igual a 0,5 µg/dL ou 1,0%.

Especificidade . O método proposto foi comparado com um método similar utilizando 80 amostras com valores situados entre 4 e 727 µg/dL. A comparação resultou na equação da regressão: $y = 1,039x - 2,247$ e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,999. O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado no nível de decisão (50 µg/dL) foi igual a 0,3 µg/dL ou 0,6%.

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e pacientes hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Repetitividade - Imprecisão intra-ensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	53	2,41	4,5
Amostra 2	20	219	5,75	2,6

Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	54	2,43	4,5
Amostra 2	20	226	6,50	2,9

Sensibilidade metodológica . Utilizando-se a absorvância do padrão como parâmetro, a sensibilidade fotométrica é 1,02 µg/dL correspondendo a uma absorvância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Duas amostras com valores iguais a 851 e 1000 µg/dL foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com água deionizada. Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 16 encontraram-se recuperações entre 95 e 103%.

Significado clínico . O ferro é essencial para a maioria dos organismos vivos pois participa de numerosos processos vitais, desde os processos oxidativos celulares ao transporte de oxigênio para os tecidos. A homeostasia do ferro é regulada principalmente pela absorção e não pela excreção. O ferro é transportado no sangue por uma proteína, a transferrina, e armazenado nos tecidos ligado à outra proteína chamada ferritina.

A deficiência de ferro é consequência de suprimento inadequado, aumento da demanda, perda sanguínea ou a combinação destes fatores. O suprimento inadequado é característico das crianças alimentadas com leite. Já o aumento de demanda é característico da gravidez e das crianças nos primeiros 5 anos de vida.

Menstruação abundante, hemorragias gastrointestinais, hemorróidas, carcinoma de cólon e parasitoses são causas comuns de deficiência de ferro sérico por perda sanguínea no adulto.

Transfusões repetidas, hemocromatose idiopática, cirrose, talassemia e anemia sideroblástica são as causas mais comuns de aumento do ferro sérico.

A tabela abaixo apresenta o comportamento da dosagem de ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro (CTLF), índice de saturação da transferrina (IST) e reserva de ferro medular (RF), avaliada pela coloração específica de esfregaço da medula óssea, nas diversas situações ligadas à alteração no metabolismo do ferro.

Alterações do metabolismo	Ferro Sérico	CTLF	IST	RF
Deficiência de ferro	D	E	D	A
Infecções crônicas	D	D	D	E
Doenças malignas	D	D	D	E
Atransferrinemia	D	D	S	E
Período menstrual	D	S	D	S
Gravidez (3º trimestre)	D	E	D	S
Hemosiderose pulmonar	D	S	D	A
Nefrose	D	D	E	E
Kwashiorkor	D	D	S	S
Contraceptivos orais	S/E	E	S	S
Intoxicação com ferro	E	D	E	E
Anemia hemolítica	E	S/D	E	E
Hemocromatose	E	S/D	E	E
Deficiência de piridoxina	E	S	E	E
Anemia sideroblástica	E	S/D	E	E
Talassemia major	E	D	E	E

D = diminuído E = elevado S = sem alteração
A = ausente

Observações

1. A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

2. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água deionizada ou destilada utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágüe final da vidraria, deve ter resistividade ≥ 1 megaohm.cm ou condutividade ≤ 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

3. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar "www.fxol.org".




Referências

- Goodwin J, Murphy B, Guillemette M. Clin Chem 1966; 12:47.
- Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2nd ed. New York, Harper & Row, 1974.
- Ooi DS, Perkins SL, Tokessy NE. Clin Chem 1992;38/4:541-544.
- Stokey L. Anal Chem 1970;42:779.
- Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. Clin Chem 1981;27:493-501.
- Williams HL, Johnson DJ, Haut MJ. Clin. Chem 1977;23:237-240.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponível em: <<http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170>> (acesso em 04/2006).
- Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
- Ferraz MHC, Delgado RB. Valores de Referência para Exames Laboratoriais. In: Leão E, Corrêa EJ, Viana MB, Mota JAC (Ed). Pediatria Ambulatorial. 3.ed. Belo Horizonte: Coopmed, 1988. P.837-848.

11. Burtis CA, Ashwood ER. Textbook of Clinical Chemistry, 2ª edição, Philadelphia: W.B. Saunders, 1986:2175-2211.

12. Labtest: Dados de Arquivo.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
Ferro Sérico	38-80	 R 11	1 X 80 mL
		 CAL	1 X 5 mL
		 R 13	1 X 2,5 mL

Informações ao consumidor

[Termos e condições de garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000

Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)

e-mail: sac@labtest.com.br

Revisão: Março, 2014


























Ref.: 041114

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.

Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro . Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control		Tóxico Tóxico Poison
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control		Reagente Reactivo Reagent
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk		Período após abertura Periodo post-abertura Period after-opening
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Corrosivo Corrosivo Corrosive		Marca CE Marcado CE CE Mark		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before						

Ref.: 140214 |