

Ferro Sérico

Finalidade . Sistema birreagente para a determinação do ferro em amostras de soro por reação de ponto final.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . O ferro é dissociado da transferrina por ação de um tampão de pH ácido. O ácido ascórbico presente no Reagente 2 reduz os íons férricos a íons ferroso que, em seguida, formam um complexo magenta brilhante com o Ferrozine[®], cuja absorvância medida entre 540 e 580 nm é proporcional à quantidade de ferro na amostra.

Características do sistema . O sistema reagente Fe Liquiform - Labtest permite procedimento simples e rápido para a determinação de ferro sérico em amostras de soro. O Reagente 1 tem pH ácido e contém agente caotrópico, que promove o desligamento do ferro da transferrina. O Reagente 2 contém ácido ascórbico, que promove a redução do ferro, e Ferrozine, que forma um complexo estável com o ferro reduzido, permitindo uma medição colorimétrica adequada entre 540 e 580 nm. As características do sistema Fe Liquiform conferem elevada precisão nas determinações de ferro sérico.

O método não sofre interferência de heparina, fibrinogênio e cobre conferindo excelente exatidão aos resultados.

O sistema Fe Liquiform garante rastreabilidade ao método de referência proposto pelo CLSI (antigo NCCLS)⁷ e permite que sejam ensaiadas amostras com concentrações de ferro até 1000 µg/dL minimizando a necessidade de diluição de amostras com concentração elevada.

O desenvolvimento do método foi direcionado para automação, tornando-o facilmente aplicável em analisadores automáticos capazes de medir com exatidão uma reação de ponto final entre 540 e 580 nm. O sistema Fe Liquiform também pode ser utilizado com sucesso em aplicações manuais utilizando fotômetros ou instrumentos semiautomáticos.

Metodologia . Labtest Ferrozine[®].

Reagentes:

1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém tampão 300 a 600 mmol/L pH 4,5; tiouréia 25 a 40 mmol/L e surfactantes.

2. [R2] - Reagente 2 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém tampão 45 a 56 mmol/L pH 4,0; Ferrozine[®] 8 a 14 mmol/L; ácido ascórbico 30 a 35 mmol/L.

3. [CAL] - Calibrador - Armazenar entre 2-8°C

Concentração no rótulo do frasco. Preparação de soro bovino liofilizado com concentração de ferro rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI⁷.

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

Precauções e cuidados especiais

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes, os quais não devem ser pipetados com a boca.

Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão e no caso de contato com os olhos, deve-se lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

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

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 reagentes.
4. Cronômetro.

Amostra

Usar soro obtido de amostra colhida em jejum. O analito é estável por 4 dias entre 15-25°C e por 6 dias entre 2-8°C.

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

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

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.

O uso de detergente iônico para limpeza do material é outra fonte de contaminação com ferro. Estudos indicam que 60% dos erros ocorridos no ensaio são devidos a erros pré-analíticos.

A amostra deve ser colhida pela manhã visando evitar o efeito das variações diurnas do ferro, que podem produzir reduções de até 30% nos resultados de ferro sérico.

Idade, sexo, período de gestação, uso de contraceptivos orais e estrogênio alteram as concentrações de ferro. A variação biológica é um evento independente do erro analítico e indica que as concentrações do ferro sérico podem variar até 26,5% em torno do ponto homeostático de cada indivíduo.

Interferências

Concentrações de bilirrubina até 20 mg/dL e triglicérides até 1000 mg/dL não produzem interferências significativas.

A presença de hemoglobina produz resultados significativamente elevados. Caso não seja possível obter amostra sem hemólise, esta interferência pode ser minimizada conforme o seguinte procedimento:

- 1. Medir a concentração de ferro (Fe) na amostra hemolisada;
- 2. Avaliar a concentração aproximada da hemoglobina (Hb) na amostra hemolisada;
- 3. Multiplicar o valor obtido para concentração de hemoglobina por 0,26 e subtrair o valor encontrado da concentração de ferro sérico (Fe). O resultado obtido corresponde à concentração aproximada de ferro na amostra.

Ferro sérico corrigido (µg/dL) = Fe - (0,26 x Hb)

Exemplo

Concentração de ferro na amostra hemolisada (Fe) = 74,0 µg/dL
Concentração de hemoglobina na amostra (Hb) = 52 mg/dL
Ferro sérico corrigido = 74 - (52 x 0,26) = 60,5 µg/dL

Para avaliar a concentração aproximada da hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e medir a absorbância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

Hemoglobina (mg/dL) ≅ Absorbância₄₀₅ x 601
Hemoglobina (mg/dL) ≅ Absorbância₄₁₅ x 467

Preparação dos reagentes . Reagente 1 e Reagente 2 prontos para uso.

Calibrador . Utilizando pipeta volumétrica, adicionar 3,0 mL de água deionizada ou destilada ao conteúdo do frasco do calibrador. Deixar em repouso durante 30 minutos. Misturar por inversão suave evitando a formação de espuma.
Estável 5 dias entre 2-8°C e 30 dias em temperatura igual ou menor que 8°C negativos (congelador de geladeira "duplex", ou freezer) em recipiente hermeticamente fechado.

Para evitar congelamentos e descongelamentos repetidos, sugerimos separar o calibrador em alíquotas de 0,5 a 1,0 mL e armazenar em recipiente hermeticamente fechado e apropriado para congelamento.

Procedimento

Este procedimento não se aplica à analisadores semiautomáticos que utilizam unicamente cubeta de fluxo. Estão disponíveis aplicações para sistemas automáticos.

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	Calibrador
Reagente 1	0,8 mL	0,8 mL	0,8 mL
Soro	----	0,1 mL	----
Calibrador	----	----	0,1 mL
Água deionizada	0,1 mL	----	----

Homogeneizar e determinar as absorbâncias do teste e calibrador em 560 nm (540 a 580 nm), acertando o zero com água deionizada. Obtém-se a absorbância A₁.

	Branco	Teste	Calibrador
Reagente 2	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL

Homogeneizar e incubar em banho-maria a 37°C durante 5 minutos. O nível da água no banho deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio. Determinar as absorbâncias do teste e calibrador em 560 nm (540 a 580), acertando o zero com o branco. Obtém-se a absorbância A₂.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 0,9 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 cálculo 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

A leitura A₁ do Teste e do Calibrador deve ser corrigida para o volume final da reação obtendo-se A_{1cor}

Teste A_{1cor} = Teste A₁ x 0,82
Calibrador A_{1cor} = Calibrador A₁ x 0,82

Ferro (µg/dL) = $\frac{\text{Teste (A}_2 - \text{A}_{1\text{cor}}\text{)}}{\text{Calibrador (A}_2 - \text{A}_{1\text{cor}}\text{)}} \times \text{Ccal}$

Ccal: concentração do calibrador

Exemplo

Teste

$$A_1 = 0,035 \qquad A_{1cor} = 0,035 \times 0,82 = 0,029$$
$$A_2 = 0,079$$

Calibrador

$$A_1 = 0,016 \qquad A_{1cor} = 0,016 \times 0,82 = 0,013$$
$$A_2 = 0,111$$

Concentração do Calibrador: 245 µg/dL

$$\text{Ferro } (\mu\text{g/dL}) = \frac{0,079 - 0,029}{0,111 - 0,013} \times 245 = 125$$

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

$$\text{FATOR} = \frac{\text{Ccal}}{\text{Calibrador } (A_2 - A_{1cor})}$$

$$\text{Ferro } (\mu\text{g/dL}) = \text{Teste } (A_2 - A_{1cor}) \times \text{Fator}$$

Exemplo

$$\text{Fator} = \frac{245}{0,111 - 0,013} = 2500$$

$$\text{Ferro } (\mu\text{g/dL}) = (0,079 - 0,029) \times 2500 = 125$$

Calibração

Rastreabilidade do sistema

A concentração de ferro no calibrador é rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI⁷.

Calibrações manuais

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

Sistemas automáticos

Branco de reagentes: água deionizada;
Padrões: usar calibrador Ref.: 91.3.

Intervalo de calibrações

Calibração do branco ao usar novo frasco de reagente;
Calibração de 2 pontos (branco e calibrador) ao usar novo lote de reagentes ou quando o controle interno da qualidade indicar.

Linearidade

O resultado da medição é linear até 1000 µg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova medição e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

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)^{5,9,10}.

Intervalo de referência^{11,12}

Estes valores devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, sua própria faixa de valores de referência.

Ferro Sérico (µg/dL)

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

Conversão: Unidades Convencionais (µg/dL) x 0,179 = Unidades SI (µmol/L)

Características do desempenho⁸

Exatidão . A exatidão do método foi demonstrada em um estudo de recuperação utilizando amostras com concentrações de ferro iguais a 50, 213 e 409 µg/dL, obtendo-se recuperações entre 99 e 103%. O erro sistemático proporcional médio foi igual a 1,29, 2,71 e 1,38%, em concentrações de 50, 220 e 400 µg/dL, respectivamente.

Estudo comparativo . O método proposto foi comparado com um método similar utilizando 20 amostras com valores situados entre 75 e 318 µg/dL. A comparação resultou na equação de regressão: y = 1,0641x – 10,389 e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,978. O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado para uma amostra de 75 e 318 µg/dL foi igual a 16,72 e 8,34%, respectivamente, mostrando uma correlação positiva entre os dois métodos.

O método proposto foi comparado com método utilizando tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	20	
Equação da regressão	Método Labtest = 1,0641 x Método comparativo - 10,389	
Coefficiente de correlação	0,978	

Conclusão: Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático total (constante e proporcional) foi igual a 16,72; 6,99 e 8,34% em concentrações iguais a 75, 225 e 318 µg/dL, respectivamente, mostrando uma correlação positiva entre os dois métodos. Esses erros são menores que o erro sistemático analítico da especificação desejável baseada na variação biológica que é ≤ 30,7%.

Estudos de precisão . O produto foi calibrado e amostras de soro humano com atividade do analito iguais a 117 e 248 µg/dL foram ensaiadas durante 20 dias consecutivos, realizando-se 02 corridas por dia e 02 replicatas por corrida.

Repetitividade - Imprecisão intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	111	5,87	5,29
Amostra 2	20	230	6,00	2,60

Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	111	6,23	5,62
Amostra 2	20	230	7,27	3,15

Conclusão: Os resultados indicam que o método atende a especificação desejável para o coeficiente de variação ($\leq 13,3\%$) baseada nos componentes da Variação Biológica.⁹

Sensibilidade metodológica . O limite de detecção do ensaio tendo sido encontrado um valor igual a 1,82 µg/dL, equivalente a média de 20 ensaios mais dois desvios padrão. Utilizando-se a absorbância padrão como parâmetro, verificou-se que o limite de detecção fotométrica (cubeta com 1,0 cm de espessura de solução) é de 2,38 µg/dL correspondendo a uma absorbância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Uma amostra com concentração igual a 820 µg/dL foi utilizada para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85%). Foram avaliadas as diluições para 2, 4, 8 e 16 em duplicatas. O valor encontrado foi comparado com o valor esperado e a diferença percentual foi calculada. Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 16 encontrou-se uma diferença de até 6,2%, o que permanece dentro do critério de aceitabilidade do erro total ($\leq 30,7\%$). Dessa forma, é possível concluir que a amostra pode ser diluída sem prejuízo ao analito até 1:16.

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 hemostasia 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 a outra proteína chamada ferritina.

A deficiência de ferro é consequência de suprimento inadequado, aumento da demanda, perda sanguínea ou a combinação destes fatores. Menstruação abundante, hemorragias gastrointestinais, hemorroidas, 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 do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro (CTLF), índice de saturação da transferrina (IST) e reserva de ferro da medula (RF) avaliada pela coloração específica de esfregaço da medula óssea, nas diversas situações ligadas à alteração no metabolismo do ferro.

Alterações	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 enxágue 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 e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar <http://www.fxol.org>

Referências

1. Goodwin J, Murphy B, Guillemette M. Clin Chem 1966; 12:47.
2. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2nd ed. New York, Harper & Row, 1974.
3. Stookey L. Anal Chem 1970;42:779.
4. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.

5. Westgard J O, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
6. Williams HL, Johnson DJ, Haut MJ. Clin. Chem 1977;23:237-240.
7. NCCLS, Determination of Serum Iron, Total Iron-Binding Capacity and Percent Transferrin Saturation; Approved Standard, NCCLS document H17-A, 1998.
8. Labtest: Dados de Arquivo.
9. Desirable Biological Variation Database specifications. Disponível em: < <https://www.westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/238-biodatabase1.html> > (acesso em 05/2024).
10. Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
11. 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. P837-848.
12. Burtis CA, Ashwood ER. Textbook of Clinical Chemistry, 2ª edição, Philadelphia: W.B. Saunders, 1986:2175-2211.

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Estão disponíveis aplicações para sistemas automáticos. O número de testes em aplicações automáticas **depende dos parâmetros de programação**.

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 - CEP: 33240-152
 Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br
Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
 e-mail: sac@labtest.com.br

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
Fe Liquiform	91-2/50c	 2 X 40 mL	
		 2 X 10 mL	
		 1 X 3 mL	
Fe Liquiform Linha CS400/800	91-4/35	 4 X 26 mL	
		 4 X 9 mL	
		 1 X 3 mL	
Fe Liquiform Linha Audmax i	91-3/44	 3 X 34 mL	
		 3 X 10 mL	
		 1 X 3 mL	

Ref.: 171125(04)

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 > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos comburentes Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Período após abertura Periodo post-abertura Period after-opening		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment
	Cartucho contendo reagente Cartucho que contiene reactivo Cartridge containing reagent		Instalar até Instalar hasta Install before

Ref.: 031125 |