

CAPACIDADE DE LIGAÇÃO DE FERRO

Instruções de Uso

Ref.: 41
MS 10009010013

Finalidade . Sistema para determinação da Capacidade de Ligação de Ferro em amostra de soro.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . Um padrão de ferro com concentração conhecida (500 µg/dL) é incubado com a amostra de soro em um tampão de pH 8,3. Ocorre, então, a saturação dos sítios disponíveis para ferro na proteína transportadora (transferrina).

O excesso de ferro não ligado é então medido através da formação de um complexo magenta brilhante após adição de Ferrozine[®], permitindo a determinação da capacidade de ligação de ferro.

Características do sistema . Capacidade de Ligação de Ferro da Labtest proporciona um sistema seguro de ensaio homogêneo direto, que através da dosagem do excesso de ferro adicionado a uma amostra, permite a medida do ferro não ligado. Este resultado possibilita calcular a capacidade latente de ligação de ferro e juntamente como o valor do ferro sérico pode-se obter a capacidade total de ligação de ferro, dado muito importante no diagnóstico de inúmeras patologias hematológicas.

O método é bastante preciso, com uma excelente robustez nos ensaios do dia a dia e demonstra que não sofre interferência de valores pouco elevados da bilirrubina e dos triglicérides.

Os estudos da diluição da matriz e os experimentos de comparação com um método proposto como tentativa para método de referência indicam que o sistema de medição apresenta especificidade e exatidão adequadas para o ensaio do analito.

O sistema utiliza metodologia manual facilmente aplicável em analisadores semiautomáticos capazes de medir uma reação de ponto final entre 540 e 580 nm.

Metodologia . Goodwin modificado.

Reagentes

1. [R1] - Tampão - Armazenar entre 15 - 30 °C.

Contém tampão 500 mmol/L, pH 8,3 e fenoxietanol 7,2 mmol/L.

2. [CAL] - Padrão 500 µg/dL - Armazenar entre 15 - 30 °C.

Após manuseio armazenar bem vedado para evitar evaporação.

3. [R3] - Ferrozine - Armazenar entre 15 - 30 °C.

Contém ferrozine[®] 28 mmol/L.

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

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

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

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

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.

Material necessário e não fornecido

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

Influências pré-analíticas . Os fatores pré-analíticos de variação representam a causa mais importante de determinações incorretas de capacidade de ligação de ferro e muitos outros analitos. A contaminação pode ocorrer na coleta, no transporte e processamento da amostra.

Para controle terapêutico é aconselhável colher a amostra sempre no mesmo horário devido às variações diurnas do ferro sérico.

Idade, sexo, período de gestação, uso de contraceptivos orais e estrogênio alteram as concentrações do ferro sérico e podem modificar os valores da capacidade de ligação 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 os procedimentos 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 4 dias entre 15 - 25 °C e 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 10 mg/dL e Triglicérides até 750 mg/dL não produzem interferências significativas.

Valores de Bilirrubina maiores que 10 mg/dL e Triglicérides maiores que 750 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

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 de CLLF.

A água deionizada deve ter uma resistividade ≥ 1 megaohm ou uma condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L.

Tomar 3 cubetas do fotômetro, lavadas como acima e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Tampão (nº 1)	1,5 mL	1,5 mL	----
Padrão (nº 2)	----	0,5 mL	0,5 mL
Água destilada ou deionizada	1,0 mL	----	2,0 mL
Soro (sem hemólise)	----	0,5 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 a absorbância do teste em 560 nm ou filtro verde (540 a 580), acertando o zero com o branco. A absorbância do teste será A_1 .

Ferrozine® (nº 3)	1 gota	1 gota	1 gota
-------------------	--------	--------	--------

Misturar e incubar em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos. 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 2,5 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. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos . Ver Linearidade.

Capacidade latente de ligação de ferro: CLLF

Capacidade total de ligação de ferro: CTLF

Índice de saturação da transferrina: IST

$$\text{CLLF } (\mu\text{g/dL}) = 500 - \left[\frac{(A_2 - A_1)}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 500 \right]$$

Exemplo

A_1 Teste = 0,023

Absorbância do Padrão = 0,475

A_2 Teste = 0,384

$$\text{CLLF } (\mu\text{g/dL}) = 500 - \left[\frac{(0,384 - 0,023)}{0,475} \times 500 \right] = 120$$

CTLF ($\mu\text{g/dL}$) = Ferro sérico + CLLF

$$\text{IST } (\%) = \frac{\text{Ferro sérico}}{\text{CTLF}} \times 100$$

Transferrina (mg/dL) = CTLF x 0,70

Calibração

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 450 $\mu\text{g/dL}$. Para valores de capacidade latente maiores que 450 $\mu\text{g/dL}$, diluir o soro 1:3 com água destilada ou deionizada e repetir a determinação. Multiplicar o resultado obtido por 3.

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 precisão 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)^{7,8}.

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

Capacidade de Ligação de Ferro ($\mu\text{g/dL}$)

CLLF: Adultos: 140 a 280 $\mu\text{g/dL}$

CTLF: Crianças^{9,10}: 150 a 400 $\mu\text{g/dL}$

Adultos: 250 a 450 $\mu\text{g/dL}$

IST: 20 a 50 %

Transferrina: 200 a 300 mg/dL

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

Características do desempenho¹¹

Exatidão . Em duas amostras com concentrações de capacidade de ligação de ferro iguais a 129 e 254 µg/dL foram adicionadas quantidades diferentes de uma amostra com capacidade de ligação de ferro igual a 453 µg/dL, obtendo-se recuperações entre 94 e 100 %. O erro sistemático proporcional médio obtido em um valor de 140 µg/dL foi igual a 4,2 µg/dL ou 3,0 %.

Especificidade . O método proposto foi comparado com um método do NCCLS³ utilizando 80 amostras com valores situados entre 105 e 335 µg/dL. A comparação resultou na equação da regressão: $y = 0,960x - 5,866$ e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,964. O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado no nível de decisão (140 µg/dL) foi igual a 11,5 µg/dL ou 8,2 %.

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 intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	278	5,62	2,0

Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 2	20	281	8,33	2,96

Sensibilidade metodológica . Utilizando-se a absorbância do padrão como parâmetro, o limite de detecção fotométrica é 0,001 µg/dL, correspondendo a uma absorbância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Duas amostras com valores iguais a 357 e 394 µg/dL foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85 %). Usando fatores de diluição que variaram de 1 a 8 foram encontradas recuperações entre 100 e 106 %.

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. Normalmente, devido a somente um terço dos sítios de ligação para o ferro da transferrina estar ocupado pelo ferro, a transferrina do soro tem considerável reserva de capacidade de ligação do ferro, que é a capacidade latente de ligação do ferro (CLLF). A capacidade total de ligação do ferro (CTLF) no soro é a medida da concentração máxima de ferro que a transferrina pode transportar. 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 exclusivamente com leite. Já o aumento de demanda é característico da gravidez e das crianças nos primeiros 5 anos de vida. Menstruação abundante, hemorragias gastrointestinais, hemorroidas, carcinoma de cólon e parasitoses são causas comuns de deficiência de ferro sérico por perda sanguínea no adulto. A CTLF mostra-se frequentemente aumentada na deficiência de ferro.

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

A tabela abaixo mostra o comportamento do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro (CTLF), percentual de saturação da transferrina (IST) e da reserva de ferro da medula (RF), avaliada pela coloração específica do esfregaço da medula óssea, em várias situações relacionadas com o metabolismo do ferro alterado.

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
S = sem alteração

E = elevado
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 medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar: Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed, 1990, Washington: AACCPress, 1990.

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. Determination of Serum Iron and Total Iron-Binding Capacity. NCCLS Document H17-P, Vol 10 No.4
4. Stookey L. Anal Chem. 1970;42:779.
5. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
6. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
7. 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).
8. Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
9. Burtis CA, Ashwood ER. Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed, Philadelphia: W.B. Saunders, 1986:2175-2211.
10. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Intervals, 5th ed, Washington: AACCPress, 2005. p.132-133.
11. Labtest: Dados de arquivo.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
Capacidade de Ligação de Ferro	41-40	R 1	1 X 60 mL
		CAL	1 X 20 mL
		R 3	1 X 2,5 mL

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

Consulte disponibilidade de aplicações com o SAC.

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












Edição: Junho, 1994

Revisão: -
Ref.: 210819

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	CONTROL	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)	REF	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number	CONTROL -	Controle negativo Control negativo Negative control	R	Reagente Reactivo Reagent
CAL	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes	CONTROL +	Controle positivo Control positivo Positive control		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
CAL	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material	IVD	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device	CONTROL	Controle Control Control	LOT	Número do lote Denominación de lote Batch code
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)	LYOPH	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk		Período após abertura Periodo post-abertura Period after-opening
EC REP	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Corrosivo Corrosivo Corrosive	CE	Marca CE Marcado CE CE Mark		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
IN	Instalar até Instalar hasta Install before						

Ref.: 140214 |