



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Jun/22)

Capacidade Ligadora Total do Ferro

Método Colorimétrico

FINALIDADE

O conjunto é um sistema que se destina à determinação da capacidade ligadora total do ferro em soro humano. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Uma solução de cloreto férrico com concentração elevada de ferro (500 µg/dL) é adicionada ao soro em pH levemente alcalino. Ocorre combinação do ferro com os sítios livres da transferrina, ocorrendo então sua saturação completa. Após adição do cromógeno Ferrozine, há formação de um complexo magenta com o ferro em excesso, não ligado. A absorbância obtida em 546 nm é uma medida da capacidade latente de ligação do ferro, a qual, adicionada à concentração de ferro previamente determinada, fornece a capacidade ligadora total do ferro na amostra.

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 (CLTF) 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 gastro-intestinais, 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.

REAGENTES

Apresentação com 60 mL:

1. **Tampão:** 01 frasco com 60 mL de tampão pH 8,5, Triton X-100 1% e azida sódica 15 mmol/L. Conservar entre 15 - 25°C.

2. **Ferozine:** 01 frasco com 3,5 mL, contendo solução aquosa de Ferrozine 25 mmol/L e hidroxilamina 600 mmol/L. Conservar entre 15 - 25°C.

3. **Padrão:** 01 frasco com 20 mL de solução aquosa de íons ferro 500 µg/dL. Conservar entre 15 - 25°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro

Centrífuga

Banho-maria

Cronômetro

Vidraria

Pipetas manuais ou automáticas

Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

1. As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.

2. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

3. Todos os reagentes podem ser transportados e armazenados em temperatura ambiente, na faixa de 15-25°C.

4. Após a manipulação, sugere-se armazenar o **Padrão** entre 2-8°C para evitar evaporação.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

1. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

2. Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.

3. O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, serem calibrados corretamente e receberem manutenção de acordo com as instruções do fabricante.

4. Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.

5. Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.

6. Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.

7. Ver cuidados no armazenamento e transporte dos reagentes.

8. Usar luvas descartáveis quando manusear reagentes.

9. Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.

10. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

11. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.

12. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.

13. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro

Sob refrigeração (2-8°C), o analito no soro é estável por 6 dias.

PROCEDIMENTO

Os reagentes estão prontos para uso.

Dosagem (soro):

Nota: Devido à alta sensibilidade do método, recomenda-se a utilização preferencial de tubos de ensaio descartáveis ou, na impossibilidade, utilizar material tratado com ácido clorídrico 50% (v/v). Enxaguar bem com água destilada ou deionizada isenta de ferro.

Separar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Padrão	-	0,5 mL	0,5 mL
Amostra	-	-	0,5 mL
Tampão	1,5mL	-	1,5mL
Água Deionizada	1,0 mL	2,0 mL	-

Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37°C durante 10 minutos. Determinar a absorbância do Teste em 546 nm (540 a 580 nm) acertando o zero com o Branco.

Obtem-se a absorbância A1 do Teste.

Ferozine	01 gota	01 gota	01 gota
----------	---------	---------	---------

Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37°C durante 10 minutos. Determinar as absorbâncias do Teste e Padrão em 546 nm (540 a 580 nm) acertando o zero com o Branco.

Obtêm-se as absorbâncias A2 do Teste e Absorbância do Padrão

CÁLCULOS

CLLF = Capacidade latente de ligação do ferro

CTLF = Capacidade total de ligação do ferro

IST = Índice de saturação da transferrina

CLLF (µg/dL) = 500 - $\frac{[(A2 - A1) \div \text{Absorbância do Padrão}] \times 500}{}$

CTLF (µg/dL) = CLLF + Ferro sérico*

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

* Ferro, Katal Cód. 42B

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

Exemplo:

A1 = 0,090; A2 = 0,300; Absorbância do Padrão = 0,460.

CLLF (µg/dL) = 500 - $\frac{[(0,300 - 0,090) \div 0,460] \times 500}{}$

CLLF (µg/dL) = 500 - $\frac{[0,210 \div 0,460] \times 500}{}$

CLLF (µg/dL) = 500 - $\{0,457 \times 500\}$

CLLF (µg/dL) = 500 - 228

CLLF (µg/dL) = 272

Ferro sérico (µg/dL) = 210

CTLF (µg/dL) = 272 + 210 = 482

IST (%) = $\frac{(210 \div 482) \times 100}{}$ = 43,6

Transferrina (mg/dL) = 482 x 0,70 = 337,4

VALORES DE REFERÊNCIA

Amostra: Soro	Referência
CLLF	140 a 280 µg/dL
CTLF	250 a 410 µg/dL
IST	20 a 50%
Transferrina	215 a 380 mg/dL

Nota: A faixa de referência apresentada para Transferrina foi baseada no Guia Clínico para Testes Laboratoriais de N.W.Tietz.

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

LINEARIDADE

A reação é linear até 500 µg/dL. Para valores de capacidade latente acima de 500 µg/dL diluir a amostra 1:3 com água destilada ou deionizada e repetir a determinação. Multiplicar o resultado obtido por 3.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 100%.

Exatidão: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia de complexação com a Ferrozine) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,9973 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $y = 1,010x - 0,12$, que demonstra uma exatidão de 99%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	348
Desvio Padrão	0,98
Coefficiente de Variação (%)	0,28

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	348
Desvio Padrão	1
Coefficiente de Variação (%)	0,30

Sensibilidade Analítica: O método apresenta uma variação de absorvância em 560 nm igual a 0,001 em cada acréscimo de 1 µg/dL na concentração de ferro. O limite de detecção do método é igual a 5 µg/dL.

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

INTERFERENTES

Resultados falsamente aumentados: hemólise, mesmo que discreta.

Resultados falsamente diminuídos: Bilirrubina maior que 10 mg/dL e Triglicérides maiores que 750 mg/dL.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Goodwin, J et al Clin. Chem. 12: 47, 1966.
- Brivio, G. et al La Ricerca Clin. Lab. 16:523, 1986
- Morin, L.G. Am. J. Clin. Pathol. 61:114,1974
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Ed., pg. 604, Saunders Press, Phila. 1995.
- Katal: Dados de arquivo

APRESENTAÇÃO

60 mL	Volume
1. Tampão	1 x 60 mL
2. Ferrozine	1 x 3,5 mL
3. Padrão	1 x 20 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

- A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

(31) 3311-3665 ou (11) 99217-8407

e-mail: sac@katal.com.br



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG – Brasil – CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga – CRBio 076936/04-D

MS: 10377390108

Data da última revisão: 09/06/2022

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote