

Procedimentos para reprodutibilidade da curva padrão na determinação do iodo urinário

Juliana Martinez PEREIRA*, **Raimunda Telma de Macêdo SANTOS**, **Regina Maria CATARINO**

Núcleo de Hematologia e Bioquímica, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz

**Programa Institucional Brasileiro de Iniciação Científica (PIBIC)*

A deficiência de iodo ainda constitui um dos maiores problemas de saúde pública mundial, e ao mesmo tempo o mais facilmente prevenível. Considerando esses relatos o Conselho Internacional para Controle das Desordens por Deficiência de Iodo (ICCIDD), preconiza a excreção urinária de iodo como indicador epidemiológico mais utilizado para avaliar as concentrações de iodo na urina, as quais refletem o iodo ingerido na dieta¹.

A metodologia bioquímica mais utilizada e considerada de baixo custo e de execução relativamente simples é a reação de Sandell-Kolthoff (1937)², modificado por Pino (1996)³ e adaptado em nosso laboratório^{4,5}.

Entretanto, alguns procedimentos básicos deverão ser seguidos com rigoroso controle de qualidade para garantir os resultados das análises. Em relação **às vidrarias**: apesar de serem totalmente separadas para esse fim, passam por uma seleção verificando-se a existência de trincas, quebras, manchas internas, podendo apresentar resíduo de detergente; quanto à limpeza, a secagem e o

preparo são seguidos por um protocolo de controle de qualidade estabelecido em nosso laboratório; **os reagentes químicos**: a importância na utilização dos mesmos com alto teor de pureza, assim como, a verificação das características, do preparo e a observação rigorosa de suas propriedades e de suas reações químicas; a qualidade da água também é essencial no preparo das soluções. Uma vez as soluções prontas, deverão ser armazenadas em frascos de cor âmbar e identificados contendo nome da solução, data, lote do reagente, validade da solução, temperatura do local, nome do profissional que realizou o preparo, os quais deverão ser mantidos em local determinado; **eliminação de interferentes mantendo o controle**: das temperaturas ambiente e dos equipamentos como termobloco e banho-maria, da redução da luminosidade, do tempo no preparo dos reagentes e da monitoração da reação de redução do sulfato cérico amoniacal.

Para a realização de todos esses procedimentos é de fundamental importância a capacitação de recursos humanos oferecendo treinamentos de pesagem e pipetagem.

Em todas as etapas realizadas são seguidas as Boas Práticas de Laboratório (BPL), além da utilização dos Equipamentos de Proteção Individual (EPI) e Coletivo (EPC).

Os resíduos químicos provenientes da reação de iodo são acondicionados seguindo as Normas do Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) da Instituição atendendo aos requisitos da ANVISA - RDC/nº 306 de 12/2004 e CONAMA nº 358 de 04/2005, quanto ao armazenamento, descarte e destino final.

Para a reprodutibilidade da curva padrão, foram utilizadas micropipetas calibradas e soluções padrões com concentrações conhecidas.

O princípio da reação se baseia na detecção indireta do iodo pela monitoração da redução do sulfato cérico amoniacal. O iodeto presente na amostra catalisa a redução do íon cérico (Ce^{4+}), amarelo, a íon ceroso (Ce^{3+}), transparente. A adição de arsênio à reação permite a regeneração de iodeto acoplada à oxidação de As^{3+} a As^{5+} , o que causa a redução de todo íon cérico (Ce^{4+}).

Os padrões de iodo são preparados com soluções de iodato de potássio em diferentes concentrações servindo como padrões de referência para cobrir toda a faixa do ensaio. A determinação da curva padrão do iodo é obtida com quatro (4) soluções de concentrações 2, 5, 10 e 15 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (Tabela 1), e a essas soluções é adicionado o persulfato de amônio e a água milliQ em iguais volumes. A reação desses reagentes químicos é realizada em temperatura entre 91°C a 94°C por 30 minutos em termobloco dentro de capela química de exaustão ao abrigo da luz. Após o resfriamento das soluções, estas são colocadas em banho-maria a 37°C e acrescidos os reagentes: ácido arsenioso 0,2N, ácido sulfúrico 2,5N, água milliQ e sulfato cérico amoniacal.

Para a leitura dos parâmetros foi utilizado espectrofotômetro UV/VIS (HP 8453/Agilent-Modelo G1103) acoplado a um programa de computador para a técnica de determinação de iodo

urinário num comprimento de onda de 405nm, respeitando o intervalo de 1 minuto entre cada leitura (Gráfico 1). Os resultados são expressos em $\mu\text{g}/\text{dL}$ de iodo urinário.

A reprodutibilidade da curva padrão de iodo é determinada pela linearidade ou declinação da reta, a qual demonstra o consumo de sulfato cérico amoniacal em presença de iodo representado por cada ponto, alcançando assim, um perfeito grau de precisão (Gráfico 2).

Processo dos padrões no espectrofotômetro

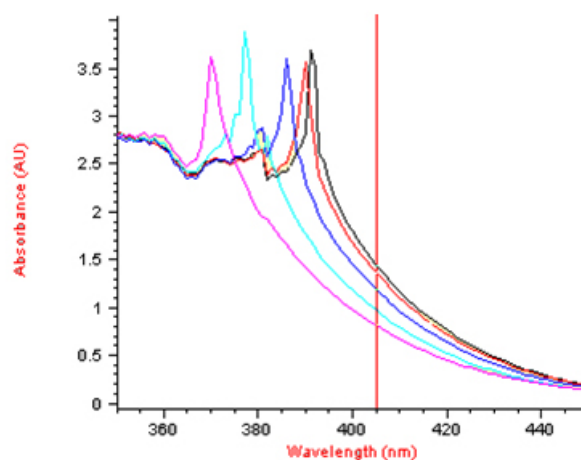


Gráfico 1. Leitura da concentração de iodo no comprimento de onda 405nm

Curva padrão

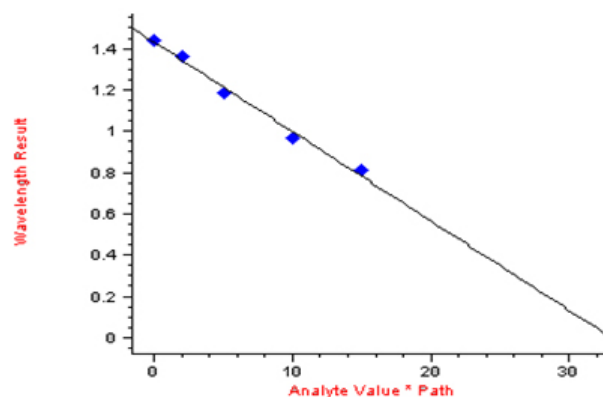


Gráfico 2. Linearidade da curva padrão

Tabela 1. Padrões de concentração de iodo

#	Standard Name	Iodo (µg/dL)	Abs <405nm>
1	branco	C.COCOO	1.43950
2	2	2.0000C	1.35940
3	5	5.00000C	1.18460
4	10	10.00000C	0.96918
5	15	15.00000C	0.81202

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization (WHO). Indicators for assessing iodine deficiency disorders and their control through salt iodination. WHO publication NUT-94.6. Geneve:WHO, 1994.
2. Sandell EB, Kolthoff IM. Micro determination of iodide by a catalytic method. *Mikrochim Acta* 1937;1:9-2.
3. Pino S, Fang S-L, Braverman LE. Ammonium persulfate: A safe alternative oxidizing reagent for measuring urinary iodine. *Clin Chem* 1996; 42(2):239-43.
4. Borioli RA, Ferreira JE, Catarino RM. Importância da determinação de iodo urinário para Saúde Pública. *Jornal Brasileiro de Patologia* 2002; 38(3):82.
5. Tonissi AP, Ferreira JE, Costa EAS, Catarino RM, Santos RTM. Estudo da validação do método de iodo urinário: resultados preliminares. *Bol Inst Adolfo Lutz* 2007;17(1/2): 50.