

Quantitative determination of Transferrin (TRF) IVD

Store 2 - 8°C.

INTENDED USE

The Transferrin is a quantitative turbidimetric test for the measurement of transferrin in human serum or plasma.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-transferrin antibodies when mixed with samples containing TRF, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the TRF concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known TRF concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Transferrin is a plasma protein formed by a single polypeptide chain. Carbohydrates are approximately the 6% of its total weight. It is synthesized by the liver and transfers iron through the serum.

Evaluation of plasmatic TRF levels is useful for the differential diagnosis of anemia and for monitoring its treatment. In the hypochromic anemia (iron deficiency), the TRF level is increased. When anemia appears due to a failure at incorporating iron into erythrocytes, the TRF level could be normal or low but the protein is highly saturated with iron. In iron overload, the TRF concentration is normal but saturation exceeds 55% and may reach levels of 90%.

TRF concentration may be used for assessing nutritional status. In the congenital atransferrinemia, very low level of TRF is accompanied by iron overload and a severe hypochromic anemia.

High levels of TRF may also be detected during pregnancy and estrogen administration.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Sodium azide 0.95 g/L.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human transferrin, pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

The assay has been standardized against the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). It must be used the PROT CAL to calibrate the reagent. The reagent (both monoreagent and bireagent) should be recalibrated every month, when the controls are out of specifications, and when changing the reagent lot or the instrument settings.

PREPARATION
Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL Calibrator dilutions in CINA 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the transferrin calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the transferrin concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 340 nm filter (320 - 360 nm).

SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE

1. Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.
2. Assay conditions:

 Wavelength : 340 nm
 Temperature : 37 °C
 Cuvette light path : 1cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

Reagent R1 (µL)	800
Sample or Calibrator (µL)	10

5. Mix and read the absorbance (A₁) after the sample addition.

6. Immediately, pipette into de cuvette:

Reagent R2 (µL)	200
-----------------	-----

7. Mix and read the absorbance (A₂) of calibrators and sample exactly 2 minutes after the R2 addition.

Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.
CALCULATIONS

 Calculate the absorbance difference (A₂-A₁) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the TRF concentration of each calibrator dilution. TRF concentration in the sample is calculated by interpolation of its (A₂-A₁) in the calibration curve.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Ref.:1102004) is available. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES²

Between 200 - 360 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Measurement range:** Up to 750 mg/dL under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample / reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
2. **Detection Limit:** Values less than 1 mg/dL give non-reproducible results.
3. **Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 2000 mg/dL
4. **Sensitivity:** Δ 3.0 mA / mg/dL (94 mg/dL).
5. **Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in an EP5-based study.

EP5	CV (%)		
	77.02 mg/dl	206.99 mg/dl	377 mg/dl
Total	5.4%	2.5%	5.4%
Within Run	1%	0.8%	1.2%
Between Run	1.7%	1.3%	2.1%
Between Day	5%	2%	4.9%

6. **Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using the Immage from Beckman. 100 samples ranging from 50 to 700 mg/dL of TRF were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.95 and the regression equation $y = 1.046x + 3.843$.

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

INTERFERENCES

 Hemoglobin (10 g/L), bilirubin (20 mg/dL), rheumatoid factors (300 IU/mL) and lipemia (5 g/L), do not interfere. Other substances may interfere ^{5,6}.

NOTES

1. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Kreutzer HJH. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 401-406
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PACKAGING

Ref.: 1102134

Cont.

 R1. Diluent: 1 x 40 mL
 R2. Antibody: 1 x 10 mL

Determinación cuantitativa de Transferrina (TRF) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de transferrina en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos anti-TRF forman compuestos insolubles cuando se combinan con la TRF de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de TRF en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de TRF de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La transferrina es una proteína plasmática, compuesta por una sola cadena polipeptídica con un 6% de carbohidratos aproximadamente. Se sintetiza en el hígado y transfiere hierro a través del suero.

La medida de la TRF en plasma es útil para el diagnóstico diferencial de la anemia y para monitorizar su tratamiento. El nivel de TRF aumenta en la anemia hipocrómica (deficiencia de hierro). Si la anemia es debida a un fallo de la incorporación del hierro en los hematíes, el nivel de TRF es normal o bajo, pero la proteína está ligeramente saturada de hierro. En estados de sobrecarga de hierro, la concentración de TRF es normal pero la saturación excede al 55% pudiendo llegar al 90%. El control de TRF se utiliza también para diagnosticar el estatus nutricional. En una atransferrinemia congénita, los bajos niveles de TRF se acompañan de una sobrecarga de hierro y de una anemia hipocrómica severa. El embarazo y el tratamiento con estrógenos pueden aumentar el nivel de TRF.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-transferrina humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACION

El ensayo está calibrado frente al Material de Referencia CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Debe utilizarse el Calibrador PROT CAL para la Calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada mes, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACION
Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador PROT CAL en ClNa 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de TRF, multiplicar la concentración de TRF del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
ClNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro: Presencia de partículas y turbidez.

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben centrifugarse. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
2. Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 340 nm
 - Temperatura: 37°C
 - Paso de luz de la cubeta: 1 cm
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1 (µL)	800
Muestra o Calibrador (µL)	10

5. Mezclar y leer la absorbancia (A_1) después de la adición de la muestra.
6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2 (µL)	200
------------------	-----

7. Mezclar y leer la absorbancia (A_2) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.
CALCULOS

 Calcular la diferencia de absorbancias ($A_2 - A_1$) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de TRF de cada dilución del Calibrador. La concentración de TRF en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia ($A_2 - A_1$) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA²

Entre 200 - 360 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Rango de medida:** hasta 750 mg/dL en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con ClNa 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.
2. **Límite de detección:** valores por debajo de 1 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
3. **Sensibilidad:** Δ 3,0 mA / mg/dL (94 mg/dL).
4. **Efecto prozona:** No se observa hasta valores de 2000 mg/dL.
5. **Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	77.02 mg/dl	206.99 mg/dl	377 mg/dl
Total	5.4%	2.5%	5.4%
Within Run	1%	0.8%	1.2%
Between Run	1.7%	1.3%	2.1%
Between Day	5%	2%	4.9%

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método Immage de Beckman. 100 muestras de concentraciones de TRF entre 50 y 700 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,95 y la ecuación de la recta de regresión $y = 1,046x + 3,843$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

 Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L), lípidos (5 g/L) y factores reumatoides (300 UI/mL), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir ^{5,6}.

NOTAS

1. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Kreutzer HJH. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 401-406
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACION

Ref.: 1102134	Cont.	R1. Diluyente: 1 x 40 mL R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL
---------------	-------	---

Détermination quantitative de Transferrine (TRF) IVD

Conserver à 2 - 8 °C

UTILISATION RECOMMANDÉE

Essai turbidimétrique pour la quantification de transferrine dans le sérum ou le plasma humain.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les anticorps anti-TRF forment des composés insolubles lorsqu'ils s'associent à la TRF de l'échantillon du patient, provoquant une variation d'absorbance proportionnelle à la concentration de TRF dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibrateur de TRF ayant une concentration connue.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La transferrine est une protéine plasmatique, composée par une seule chaîne polypeptidique ayant environ 6 % d'hydrates de carbone. Elle est synthétisée par le foie et transporte le fer à travers le sérum.

La mesure de la TRF dans le plasma sert au diagnostic différentiel de l'anémie et au suivi de son traitement. Le niveau de TRF augmente en cas d'anémie hypochrome (carence en fer). Si l'anémie est due à une défaillance d'incorporation du fer dans les globules rouges, le niveau de TRF est normal ou faible, mais la protéine est légèrement saturée en fer. En cas de surcharge de fer, la concentration de TRF est normale, mais la saturation dépasse 55 % et peut atteindre 90 %. Le contrôle de la TRF est également utilisé pour le diagnostic de l'état nutritionnel. Dans l'atransferrinémie congénitale, le faible niveau de TRF est accompagné d'une surcharge de fer et d'une anémie hypochrome sévère. La grossesse et le traitement aux oestrogènes peuvent entraîner l'augmentation du niveau de TRF.

RÉACTIFS

Diluant (R1)	Tampon tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azoture de sodium 0,95 g/L.
Anticorps (R2)	Sérum de chèvre, anti-transferrine humaine, pH 7,5. Azoture de sodium 0,95 g/L.
En option :	Réf : 1102003 PROT CAL.

ÉTALONNAGE

L'essai est étalonné par rapport au Matériaux de référence CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Le calibrateur PROT CAL doit être utilisé pour l'étalonnage. Le réactif (aussi bien monoréactif que biréactif) doit être réétalonné chaque mois, lorsque les résultats contrôlés sont hors spécifications et lorsque le lot de réactif ou la configuration de l'instrument change.

PRÉPARATION
Réactifs : Prêts à l'emploi.

Courbe d'étalonnage : Préparer les dilutions suivantes du calibrateur PROT CAL dans du NaCl 9 g/L comme diluant. Pour obtenir les concentrations de chaque dilution de TRF, multiplier la concentration de TRF du calibrateur par le facteur correspondant indiqué dans le tableau :

Dilution calibrateur	1	2	3	4	5	6
Calibrateur (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	--
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration, lorsque les flacons sont maintenus bien fermés à 2-8 °C, et en évitant leur contamination lors de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs après leur date d'expiration.

Indicateurs de détérioration : Présence de particules et turbidité.

Ne pas congeler ; la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter la fonctionnalité de ces derniers.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Bain-marie à 37 °C.

- Spectrophotomètre ou photomètre avec cuvette thermostatable à 37 °C pour lectures à 340 (320-360 nm).

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais recueilli avec de l'héparine ou de l'EDTA comme anticoagulants. Stable 7 jour à 2-8 °C ou 3 mois à -20 °C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lipémiqes.

PROCÉDURE

1. Chauffer les réactifs et le photomètre (porte-cuvettes) à 37 °C.

2. Conditions d'essai :

Longueur d'onde : 340 nm

Température : 37 °C

Passage de lumière de la cuvette. 1 cm

3. Ajuster le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.

4. Pipeter dans une cuvette :

Réactif R1 (µL)	800
Échantillon ou calibrateur (µL)	10

 5. Mélanger et lire l'absorbance (A_1) après l'ajout de l'échantillon.

6. Immédiatement après, pipeter dans la cuvette :

Réactif R2 (µL)	200
-----------------	-----

 7. Mélanger et lire l'absorbance (A_2) exactement 2 minutes après l'ajout du réactif R2.

Spinreact dispose d'adaptations détaillées pour la plupart des analyseurs automatiques du marché. Veuillez contacter votre distributeur pour obtenir des informations.
CALCULS

 Calculer la différence d'absorbances ($A_2 - A_1$) obtenues pour les différents calibrateurs, et construire la courbe d'étalonnage des valeurs obtenues par rapport aux concentrations de TRF de chaque dilution du Calibrateur. La concentration de TRF de l'échantillon est calculée par interpolation de sa différence ($A_2 - A_1$) sur la courbe d'étalonnage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé d'utiliser des sérums de contrôle, afin de contrôler les essais aussi bien lors de procédures manuelles qu'automatiques. Spinreact dispose du PROT CONTROL Réf : 1102004.

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées.

VALEURS DE RÉFÉRENCE?

Entre 200 - 360 mg/dL. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

- Plage de mesure :** Jusqu'à 750 mg/dL, dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons ayant des valeurs supérieures doivent être dilués à 1/5 dans du NaCl 9 g/L et retestés. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. La diminution du volume d'échantillon entraîne l'augmentation de la limite supérieure de l'intervalle de mesure, bien que la sensibilité s'en voie réduite.
- Limite de détection :** Des valeurs inférieures à 1 mg/dL donnent lieu à des résultats peu reproductibles.
- Sensibilité :** Δ 3,0 mA / mg/dL (94 mg/dL).
- Effet prozone :** Aucun effet prozone n'est observé jusqu'à des valeurs de 2000 mg/dL.
- Précision :** Le réactif a été testé durant 20 jours avec trois niveaux différents de sérum dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	77.02 mg/dl	206.99 mg/dl	377 mg/dl
Total	5.4 %	2.5 %	5.4 %
Pendant l'exécution	1 %	0.8 %	1.2 %
Entre l'exécution	1.7 %	1.3 %	2.1 %
Entre jours	5 %	2 %	4.9 %

- Exactitude :** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé à la méthode Immage de Beckman. 100 échantillons de concentrations de TRF entre 50 et 700 mg/dL ont été analysés par les deux méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,95 et l'équation de la droite de régression $y = 1,046x + 3,843$. Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

 La bilirubine (20 mg/dL), l'hémoglobine (10 g/L), les lipides (5 g/L) et les facteurs rhumatoïdes (300 UI/mL) n'interfèrent pas. D'autres substances peuvent interférer^{5,6}.

REMARQUES

- Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, mais doit également tenir compte des données cliniques du patient.

BIBLIOGRAPHIE

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Kreutzer HJH. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 401-406
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRÉSENTATION

Réf. : 1102134

Cont..

 R1. Diluant : 1 x 40 mL
 R2. Anticorps : 1 x 10mL

Determinação quantitativa de Transferrina (TRF) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensaio turbidimétrico para a quantificação de transferrina no soro ou plasma humano.

PRINCÍPIO DO METODO

Os anticorpos anti-TRF formam compostos insolúveis quando se combinam com a TRF da amostra do paciente, provocando uma alteração da absorvância proporcional à da concentração de TRF na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de TRF de concentração conhecida.

SIGNIFICADO CLINICO

A transferrina é uma proteína plasmática, composta por uma só cadeia polipeptídica com aproximadamente 6% de carboidratos. É sintetizada no fígado e transfere ferro através do soro.

A medição da TRF no plasma é útil para o diagnóstico diferencial da anemia e para monitorizar o seu tratamento. O valor de TRF aumenta na anemia hipocrômica (deficiência de ferro). Se a anemia for devida a uma falência da incorporação do ferro nas hemácias, o nível de TRF é normal ou baixo, mas a proteína está ligeiramente saturada de ferro. Em estados de sobrecarga de ferro, a concentração de TRF é normal mas a saturação excede os 55% podendo chegar aos 90%. O controlo de TRF utiliza-se também para diagnosticar o estado nutricional. Numa transferrinemia congénita, os baixos níveis de TRF acompanham-se de uma sobrecarga de ferro e de uma anemia hipocrômica grave. A gravidez e o tratamento com estrogénios podem aumentar o nível de TRF.

REAGENTES

Diluyente (R1)	Tampão tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticorpo (R2)	Soro de cabra, anti-transferrina humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRAÇÃO

O ensaio está calibrado com o Material de Referência CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Deve utilizar-se o Calibrador PROT CAL para a Calibração. O reagente (tanto monoreagente como bireagente) deve ser recalibrado em cada mês, quando os controlos estão fora das especificações, e quando o lote de reagente ou a configuração do equipamento muda.

PREPARAÇÃO

Reagentes: Prontos para utilização.

Curva de Calibração: Preparar as seguintes diluições do Calibrador PROT CAL em NaCl 9 g/L como diluyente. Para obter as concentrações de cada diluição de TRF, multiplicar a concentração de TRF do calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
ClNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada na embalagem quando os frascos são mantidos bem fechados a 2-8°C, e se evita a contaminação durante a utilização. Não utilizar reagentes que tenham ultrapassado o prazo.

Indicadores de deterioração: Presença de partículas e turvação

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Diluyente pode afectar a funcionalidade dos mesmos.

MATERIAL ADICIONAL

- Banho de água a 37°C.
- Espectrofotómetro ou fotómetro com cubete termostatzável a 37°C para leituras a 340 nm (320-360 nm).

AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes. Estável 7 dias a 2-8°C ou 3 meses a -20°C.

As amostras com restos de fibrina devem ser centrifugadas. Não utilizar amostras altamente hemolizadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

1. Aquecer os reagentes e o fotómetro (portacubetes) a 37°C.
2. Condições do ensaio:

Comprimento de onda: 340 nm
Temperatura: 37°C
Feixe de luz da cubete: 1 cm

3. Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada.

4. Pipetar para uma cubete:

Reagente R1 (µL)	800
Amostra ou Calibrador (µL)	10

5. Misturar e ler a absorvância (A_1) depois da adição da amostra.
6. Imediatamente a seguir, pipetar numa cubete:

Reagente R2 (µL)	200
------------------	-----

7. Misturar e ler a absorvância (A_2) exactamente 2 minutos após acrescentar o reagente R2.

Spinreact dispõe de adaptações detalhadas para a maioria de analisadores automáticos do mercado. Solicite a informação ao seu distribuidor.

CÁLCULOS

Calcular a diferença de absorvâncias ($A_2 - A_1$) obtidas para os distintos calibradores, e construir a curva de calibração dos valores obtidos com as concentrações de TRF de cada diluição do Calibrador. A concentração de TRF na amostra calcula-se por interpolação da sua diferença ($A_2 - A_1$) na curva de calibração.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se a utilização de soros controlo para controlar os ensaios tanto no procedimento manual como no automático. Spinreact dispõe do PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correções no caso de os controlos não cumprirem com as tolerâncias exigidas.

VALORES DE REFERÊNCIA²

Entre 200 - 360 mg/dL. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

1. *Intervalo de medida:* até 750 mg/dL nas condições descritas do ensaio. As amostras com valores superiores devem diluir-se 1/5 com NaCl 9 g/L e ser novamente testadas. O intervalo de medida depende da relação amostra/reagente. Diminuindo o volume de amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medida, embora se reduza a sensibilidade.

2. *Limite de detecção:* valores abaixo de 1 mg/dL originam resultados pouco reprodutíveis.

3. *Sensibilidade:* Δ 3,0 mA / mg/dL (94 mg/dL).

4. *Efeito prozona:* Não se observa até valores de 2000 mg/dL.

5. *Precisão:* Oreagente foi testado durante 20 dias com três níveis diferentes de soro num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	77,02 mg/dL	206,99 mg/dL	377 mg/dL
Total	5,4%	2,5%	5,4%
Within Run	1%	0,8%	1,2%
Between Run	1,7%	1,3%	2,1%
Between Day	5%	2%	4,9%

6. *Exactidão:* O comportamento deste método (y) foi comparado com o método Immage de Beckman. 100 Amostras de concentrações de TRF entre 50 e 700 mg/dL foram analisadas com ambos os métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,95 e a equação da recta de regressão $y = 1,046x + 3,843$.

As características do método podem variar segundo o analisador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemoglobina (10 g/L), bilirrubina (20 mg/dL), lípidos (5 g/L) e factores reumatóides (300 UI/mL), não interferem. Outras substâncias podem interferir^{5,6}.

NOTAS

1. O diagnóstico clínico não deve ser feito unicamente com os resultados de um único ensaio, mas deve considerar-se ao mesmo tempo os dados clínicos do paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Kreutzer HJH. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 401-406
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1102134

Cont.

R1: Diluyente: 1 x 40 mL
R2: Anticorpo: 1 x 10 mL