

**Quantitative determination of Transferrin (TRF)**
**IVD**

Store 2 - 8°C.

**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 that contains a single polypeptide chain with approximately 6% carbohydrate. It is synthesized in the liver and transfers iron through the serum.

Evaluation of plasma 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. On the other hand, if the anemia is due to a failure to incorporate iron into erythrocytes, the TRF level is 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 be as great as 90%.

TRF concentration may, in fact, be used for assessing nutritional status. In the congenital defect atransferrinemia, very low level of TRF is accompanied by iron overload and a severe hypochromic anemia that is resistant to iron therapy. High levels of TRF occur in pregnancy and during estrogen administration.

**REAGENTS**

<b>R 1</b>	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3.
Diluent	Sodium azide 0.95 g/L.
<b>R 2</b>	Goat serum, anti-human transferrin, pH 7.5.
Antibody	Sodium azide 0.95 g/L.
<b>Optional</b>	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 ClNa 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**

- Spinlab 180autoanalyzer
- Laboratory equipment

**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.

**REFERENCE VALUES**

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

**NOTES**

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

**SPINLAB 180 APPLICATION**

Name	Transferrin	Ref. male low	200 mg/dL
Abbr. Name	TRF	Ref. male high	360 mg/dL
Mode	Twopoints	Ref. female low	200 mg/dL
Wavelength	340 nm	Ref. female high	360 mg/dL
Units	mg/dL	Ref. Ped. Low	*
Decimals	0	Ref. Ped. High	*
Low Conc.	1 mg/dL	Control 1	*
High Conc.	750 mg/dL	Control 2	*
Calibrator name	SP CAL	Control 3	*
Prozone check	No	Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
<b>DUAL MODE</b>			
<b>Sample blank</b>	<b>No</b>		
R1 bottle (mL)	25 mL		
normal volume	240 µL		
rerun volume	240 µL		
Sample			
normal volume	2.0 µL		
rerun volume	2.0 µL		
R2 bottle (mL)	5 mL		
normal volume	60 µL		
rerun volume	60 µL		
Predilución	No		
Slope blank	No		
Point one,two	-3.130 sec.		
Reagent blank	No		
Low Absorbance	-0.100 Abs		
High Absorbance	3.000 Abs		
R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs		
R. Abs. H. Limit	3.000 Abs		
Substr.Depletion	3.000 Abs		

**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.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

**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.

**Detection Limit:** 0 mg/dL.

**Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 2000 mg/dL

**Sensitivity:** Δ 3.0 mA / mg/dL (94 mg/dL).

**Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study.

EP5	CV (%)		
		77.02 mg/dl	206.99 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%

**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.

**BIBLIOGRAPHY**

1. McNeely 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 H.J.H. 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.

**PRESENTATION**

Ref: SP1102134

Cont.

R1: 2 x 20 mL

R2: 2 x 5 mL

## Determinación cuantitativa de Transferrina (TRF)

### IVD

Conservar a 2-8°C

### 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 transferrinemia 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

<b>R 1</b>	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g /L.
<b>R 2</b>	Suero de cabra, anti-transferrina humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
<b>Opcional</b>	Ref: 1102003 PROT CAL.

### CALIBRACIÓN

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 NaCl 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
NaCl 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

- Autoanalizador Spinlab 180
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### 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.

### VALORES DE REFERENCIA

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

### NOTAS

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.

## APLICACIÓN AL SPINLAB 180

Nombre	Transferrina	Ref. Hombre Inf.	200 mg/dL
Nombre abreviado	TRF	Ref. Hombre Sup.	360 mg/dL
Modo	Twopoint	Ref. Mujer Inf.	200 mg/dL
Long. ondas	340 nm	Ref. Mujer Sup.	360 mg/dL
Unidades	mg/dL	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	0	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	1 mg/dL	Control 1	*
Conc. Superior	750 mg/dL	Control 2	*
Calibrador	CAL PS	Control 3	*
Chequeo prozona	No	Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
<b>MODO DUAL</b>			
<b>Blanco muestra</b>	<b>No</b>		
Frasco R1 (mL)	25 mL		
Vol. normal	240 µL		
Vol. repet.	240 µL		
Muestra			
Vol. normal	2.0 µL		
Vol. repet.	2.0 µL		
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. normal	60 µL		
Vol. repet.	60 µL		
Predilución	No		
Pendiente Blco.	No		
1er,2º punto	-3.130 sec.		
Blanco reactivo	No		
Absorbancia inf.	-0.100 Abs		
Absorbancia sup.	3.000 Abs		
Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs		
Lim.Sup. Abs. React .	3.000 Abs		
Agotam. sustrato	3.000 Abs		

### 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.

### CARACTERISTICAS DEL METODO

**Rango de medida:** hasta 750 mg/dL en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 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.

**Límite de detección:** el valor es de 0 mg/dL

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

**Efecto prozona:** No se observa hasta valores de 2000 mg/dL.

**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
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%

**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.

### BIBLIOGRAFIA

1. McNeely 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: SP1102134

Cont.

R1: 2 x 20 mL

R2: 2 x 5 mL

## Determinação quantitativa de Transferrina (TRF)

### IVD

Conservar a 2 - 8°C.

### PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos anti-TRF formam compostos insolúveis quando se combinam com a TRF da amostra do doente, ocasionando uma alteração da absorvância proporcional à 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 cerca de 6% de carboidratos aproximadamente. É sintetizada no fígado e transfere ferro a través del soro.

A determinação da TRF no plasma é útil para o diagnóstico diferencial da anemia e para monitorizar o seu tratamento. O nível de TRF aumenta na anemia hipocrômica (deficiência de ferro). Se a anemia for devida a uma insuficiência da incorporação de ferro nas hemácias, o nível de TRF é normal ou baixo, mas a proteína está ligeiramente saturada de ferro. Nos estados de sobrecarga de ferro, a concentração de TRF é normal mas a saturação excede os 55% podendo chegar a 90%. O controlo de TRF também é feito para diagnosticar o estado nutricional. Numa atransferrinemia congénita, os baixos níveis de TRF são acompanhados de uma sobrecarga de ferro e de uma anemia hipocrômica grave. A gravidez e o tratamento com estrogénios podem aumentar os níveis de TRF.

### REAGENTES

<b>R 1 Diluyente</b>	Tampão tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
<b>R 2 Anticorpos</b>	Soro de cabra, anti-transferrina humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
<b>Opcional</b>	Ref: 1102003 PROT CAL.

### CALIBRAÇÃO

O Estudo está calibrado frente ao Material de Referencia CRM 470/RPPHS (*Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM*). Deve utilizar-se o Calibrador PROT CAL para a Calibração. O reagente (tanto o monoreagente como o bireagente) devem ser recalibrados todos os meses, quando os controlos estão fora das especificações, e quando o lote de reagente ou a configuração do instrumento 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
NaCl 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 quando os frascos são mantidos bem fechados a 2-8°C, e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

**Indicadores de deterioração:** Presença de partículas e turvação.

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

### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalisador SPINLAB 180
- Equipamento habitual de laboratorio.

### 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 centrifugar-se.

Não utilizar amostras altamente hemolisadas ou lipémicas.

### VALORES DE REFERÊNCIA<sup>2</sup>

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

### NOTAS

O diagnóstico clínico não deve ser feito unicamente com os resultados de um único estudo, mas devem ser considerados simultaneamente os dados clínicos do paciente.

## APLICAÇÃO AO SPINLAB

Nome	Transferrina	Ref. Homem Inf.	200 mg/dL
Nome abreviado	TRF	Ref. Homem Sup.	360 mg/dL
Modo	Twopoint	Ref. Mulher Inf.	200 mg/dL
Comp. ondas	340 nm	Ref. Mulher Sup.	360 mg/dL
Unidades	mg/dL	Ref. Ped. Inf.	*
Decimais	0	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	1 mg/dL	Control 1	*
Conc. Superior	750 mg/dL	Control 2	*
Calibrador	CAL PS	Control 3	*
Check prozona	Não	Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000

  

MODO DUAL	
Branco amostra	Não
Frasco R1 (mL)	25 mL
Vol. normal	240 µL
Vol. repet.	240 µL
Amostra	
Vol. normal	2.0 µL
Vol. repet.	2.0 µL
Frasco R2 (mL)	5 mL
Vol. normal	60 µL
Vol. repet.	60 µL
Prediluição	Não
Pendiente Brco.	Não
1er,2º punto	-3.130 sec.

  

Blanco reactivo	Não
Absorvância inf.	-0.100 Abs
Absorvância sup.	3.000 Abs
Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs
Lim.Sup. Abs. React.	3.000 Abs
Agotam. sustrato	3.000 Abs

### CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-sea utilização de soros controlo para controlar os estudos tanto no procedimento manual como no automático. Spinreact dispõe de PROT CONTROL Ref: 1102004. Cada laboratorio deveria estabelecer o seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correcções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias exigidas.

### CARACTERISTICAS DO MÉTODO

**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.

**Limite de deteção:** 0 mg/dL

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

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

**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%

**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.

### 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.: SP1102134

Cont.

R1: Diluyente: 2 x 20 mL

R2: Anticorpo: 2 x 5 mL