

Transferrin

Finalidade

Para a determinação de transferrina em soro ou plasma.

Significado clínico

A transferrina (TRF) é a principal proteína transportadora de ferro.

Cada molécula de TRF possui dois sítios de união para o ferro, que só é unido em sua forma oxidada (Fe^{3+}). É produzida no fígado. Seu nível plasmático é regulado principalmente pela disponibilidade de ferro.

A avaliação dos níveis plasmáticos é de utilidade no diagnóstico diferencial das anemias e no monitoramento do seu tratamento. Caso de anemia hipocrômica por deficiência de ferro, os níveis de TRF aumentam por causa do aumento na sua síntese. Embora a saturação com ferro é baixa devido aos níveis baixos de ferro. Se a anemia é devida a um defeito na incorporação à hemoglobina, os níveis de TRF são baixos mas a proteína está muito saturada com ferro.

A TRF é uma proteína de fase aguda, com baixo níveis em processos inflamatórios e tumores malignos. Encontra-se também diminuída em doenças hematológicas, cirrose, doença renal e má nutrição. Aumenta durante a gravidez e administração de estrogênios.

Fundamentos do método

A TRF reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de TRF na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: tampão Tris 50 mM, pH 7,5.

B. Reagente B: anticorpo monoespecífico anti-transferrina humana.

Reagentes não fornecidos

- Solução fisiológica.

- Immunology Control Level 1 e Protein Calibrator de Laborlab.

Instruções para uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico “in vitro”.

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análise clínica.

Todos os reagentes e as amostras devem-se descartar conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

Amostra

Soro ou plasma.

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

b) Aditivos: caso que a amostra seja plasma, recomenda-se o uso de heparina como anticoagulante.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: as amostras podem ser conservadas até 7 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 6 meses congeladas (a -20°C). Evitar os congelamentos e descongelamentos repetidos.

Interferências

Não utilizar amostras hemolisadas ou contaminadas. As amostras que apresentam precipitado devem-se centrifugar antes de se ensaiar.

Não se observam interferências por triglicerídeos até 1600 mg/dl, hemoglobina até 1000 mg/dl, bilirrubina direta até 24 mg/dl, bilirrubina total até 40 mg/dl, nem fator reumatóide até 520 UI/ml.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro

- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas

- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados

- Tubos de Kahn ou hemólise

- Banho-maria a 37°C

- Cronômetro

Condições de reação

- Comprimento de onda: 340 nm

- Temperatura de reação: 37°C

- Tempo de reação: 10 minutos

- Volume de amostra: 30 μl

- Volume final de reação: 1230 μl

Os volumes de amostra e de reagentes podem ser modificados proporcionalmente sem que sejam afetados os fatores de cálculo.

Procedimento

Curva de calibração

Realizar em tubos de Kahn as seguintes diluições em solução fisiológica do **Protein Calibrator** 1/10; 1/20; 1/40; 1/80 e 1/160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

Reagente A	1000 μl
Protein Calibrator diluído	30 μl

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	200 μl
------------	-------------------

Homogeneizar e incubar 10 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 340 nm (DO_2) dentro dos dez minutos, zerando o aparelho com água destilada.

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = \text{DO}_2 - \text{DO}_1$) para cada diluição do calibrador, incluindo o ponto zero.

Representar numa folha de papel marcada com milímetros as diferenças de absorbância ΔA em função da concentração em mg/dl de transferrina no calibrador.

Procedimento para amostras

Realizar diluições 1:10 da Amostra em solução fisiológica. Em tubos de Kahn corretamente marcados, colocar:

Reagente A	1000 μl
Amostra diluída	30 μl

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	200 μl
------------	-------------------

Homogeneizar e incubar 10 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 340 nm (DO_2) dentro dos dez minutos, zerando o aparelho com água destilada.

Cálculos dos resultados

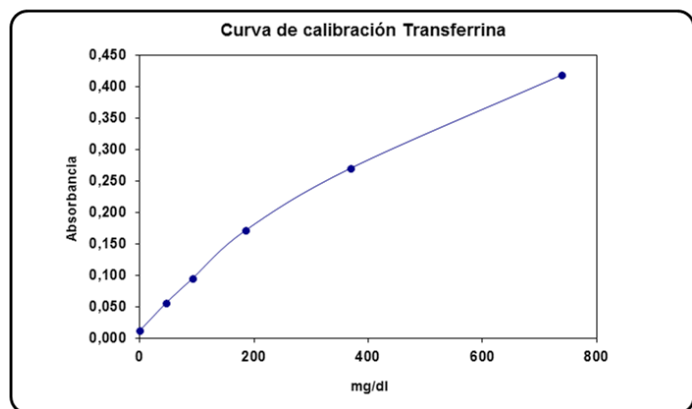
Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = \text{DO}_2 - \text{DO}_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolar a ΔA na curva de calibração para determinar a concentração de TRF em mg/dl.

As amostras com absorbâncias superiores à do **Protein Calibrator** alto devem ser diluídas 1:2 com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos por dois.

Exemplo:

Curva de calibração

	Valor Teórico (mg/dl)	DO_1	DO_2	Diferencia $\Delta A (\text{DO}_2 - \text{DO}_1)$
Calibrador 0 (SF)	0,0	0,140	0,152	0,012
Calibrador 1 (1/160)	46,1	0,142	0,198	0,056
Calibrador 2 (1/80)	92,25	0,145	0,240	0,095
Calibrador 3 (1/40)	184,5	0,152	0,323	0,171
Calibrador 4 (1/20)	369	0,165	0,435	0,270
Calibrador 5 (1/10)	738	0,162	0,580	0,418



Método de controle de qualidade

Immunology Control Level 1 de Laborlab. O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

Valores de referência

200 a 360 mg/dl (2,0 a 3,6 g/l).

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

TRF (mg/dl) x 0,01 = TRF (g/l)

Limitações do procedimento

Vide Substâncias Interferentes conhecidas em AMOSTRA.

É recomendável realizar uma nova calibração cada vez que seja mudado o lote de reagente ou quando seja determinado pelo controle de qualidade.

Para preservar a integridade dos reagentes devem ser evitados todo tipo de contaminações, utilizando para a medição micropipetas perfeitamente limpas e secas.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: determinou-se através de uma modificação do protocolo EP5-A do CLSI. Processaram-se amostras com diferentes níveis de TRF. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
208 mg/dl	± 1,5 mg/dl	0,7%
238 mg/dl	± 2,0 mg/dl	0,9%
377 mg/dl	± 2,8 mg/dl	0,7%

Precisão total

Nível	D.P.	C.V.
208 mg/dl	± 3,8 mg/dl	1,8%
238 mg/dl	± 4,6 mg/dl	2,0%
377 mg/dl	± 6,3 mg/dl	1,7%

b) Limite de detecção: é a mínima quantidade do analito capaz de ser detectada como uma amostra distinta de zero. Corresponde à concentração 3,8 mg/l de TRF.

c) Faixa de medição: corresponde ao intervalo de valores exatamente quantificáveis e compreende desde 30 a 600 mg/dl de transferrina.

d) Fenômeno prozona: não é evidente o efeito até 600 mg/dl de transferrina.

Os dados de desempenho obtiveram-se empregando analisador automático Konelab 60i, portanto estes valores podem variar cada vez que seja utilizado outro analisador ou técnica manual.

Parâmetros para analisadores automáticos

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

Apresentação

30 ml:

- 1 x 25 ml **Reagente A**

- 1 x 5 ml **Reagente B**

(Código 1770550)

60 ml:

- 1 x 50 ml **Reagente A**

- 1 x 10 ml **Reagente B**

(Código 1779659)

Referências

- Tietz Fundamentals of clinical chemistry - Burtis, C., Ashwood, E. (5ª Edition) WB Saunders, 2001.

- Young, DS. - Effects of preanalytical variables on clinical laboratory test. AACC Press - Third Edition, 2007.

- Kasvosve, I; Delanghe, J. 2002 - Clin. Chem. Lab. Med. 40/10:1014, 2002.

- Bandi, ZL; Schoen, I; Bee DE. - Clin Chem. 31/10:1601, 1985.

- EP5-A Vol. 24 Nº 25 del CLSI - Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods (approved guideline - second edition).

- EP17-A2 Vol. 24 Nº 34 del CLSI - Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline .

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

Transferrin

Fin y uso

Para la determinación de transferrina en suero o plasma

Significación clínica

La transferrina (TRF) es la principal proteína plasmática transportadora de hierro. Cada molécula de TRF posee dos sitios de unión para el hierro, el cual se une sólo en su forma oxidada (Fe^{3+}). Se sintetiza en el hígado y su nivel plasmático es regulado principalmente por la disponibilidad de hierro.

La evaluación de los niveles plasmáticos de TRF es útil en el diagnóstico diferencial de anemias y el monitoreo de su tratamiento. En casos de anemia hipocrómica por deficiencia de hierro los niveles de TRF aumentan debido a un aumento de su síntesis pero su saturación con hierro es baja como consecuencia de los bajos niveles de hierro. Por otro lado si la anemia se debe a una falla en la incorporación de hierro a la hemoglobina, los niveles de TRF son bajos pero la proteína está altamente saturada con hierro. Es una proteína de fase aguda, con bajos niveles en procesos inflamatorios y tumores malignos. Se encuentra disminuida también en enfermedades hematológicas, cirrosis, enfermedades renales y malnutrición. Aumenta durante el embarazo y administración de estrógenos.

Fundamento del método

La TRF reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de TRF presente en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

Reactivos provistos

A. Reactivo A: buffer Tris 50 mM, pH 7,5.

B. Reactivo B: anticuerpos monoespecíficos (cabra) anti-transferrina humana.

Reactivos no provistos

- Solución fisiológica
- Immunology Control Level 1 y Protein Calibrator de Laborlab.

Instrucciones para su uso

Reactivos Provistos: listos para usar.

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la manera habitual.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma se recomienda utilizar heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no emplear muestras hemolizadas, lipémicas o contaminadas. Las muestras que poseen precipitados deben ser centrifugadas previo a su ensayo.

No se observan interferencias por triglicéridos hasta 1600 mg/dl, hemoglobina hasta 1000 mg/dl, bilirrubina directa hasta 24 mg/dl, bilirrubina total hasta 40 mg/dl y factor reumatoideo hasta 520 UI/ml.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras pueden conservarse hasta 7 días en heladera (2-10°C) o 6 meses congeladas (a -20°C). Evitar congelamientos y descongelamientos repetidos.

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas
- Micropipetas y pipetas capaces de medir los volúmenes indicados
- Tubos de Kahn o hemólisis

- Baño de agua a 37°C

- Cronómetro

Condiciones de reacción

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 30 μl
- Volumen final de reacción: 1230 μl

Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

Procedimiento

CURVA DE CALIBRACION

En tubos de Kahn, realizar las siguientes diluciones en solución fisiológica del **Protein Calibrator**: 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, utilizar solución fisiológica como punto cero.

Reactivo A	1000 μl
Protein Calibrator diluido	30 μl

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	200 μl
------------	-------------------

Homogeneizar e incubar 10 minutos a 37°C, leer la absorbancia a 340 nm (DO_2) dentro de los diez minutos, llevando el aparato a cero con agua destilada.

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = \text{DO}_2 - \text{DO}_1$) para cada dilución del calibrador, incluyendo el punto cero. Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia (ΔA) en función de la concentración en mg/dl de transferrina en el calibrador.

PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

Realizar diluciones 1:10 de las muestras en solución fisiológica. En tubos de Kahn debidamente marcados, colocar:

Reactivo A	1000 μl
Muestra diluida	30 μl

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	200 μl
------------	-------------------

Homogeneizar e incubar 10 minutos a 37°C, leer la absorbancia a 340 nm (DO_2) dentro de los diez minutos, llevando el aparato a cero con agua destilada.

CALCULO DE RESULTADOS

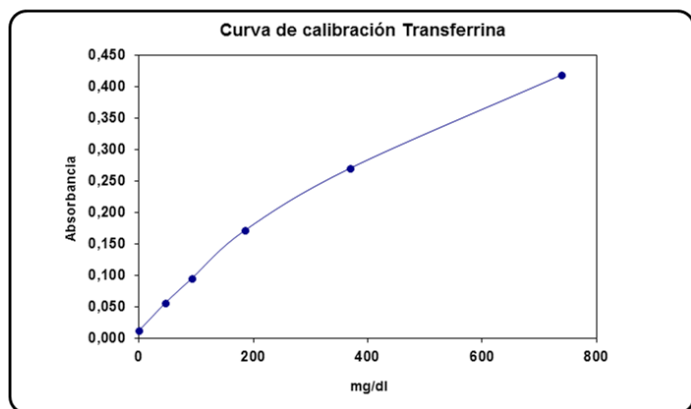
Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = \text{DO}_2 - \text{DO}_1$) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta ΔA en la curva de calibración para determinar la concentración de TRF en mg/dl.

Las muestras con absorbancias superiores a la del Calibrador deben ser diluidas 1:2 con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por dos.

Ejemplo:

Curva de calibración

	Valor Teórico (mg/dl)	DO_1	DO_2	Diferencia $\Delta A (\text{DO}_2 - \text{DO}_1)$
Calibrador 0 (SF)	0,0	0,140	0,152	0,012
Calibrador 1 (1/160)	46,1	0,142	0,198	0,056
Calibrador 2 (1/80)	92,25	0,145	0,240	0,095
Calibrador 3 (1/40)	184,5	0,152	0,323	0,171
Calibrador 4 (1/20)	369	0,165	0,435	0,270
Calibrador 5 (1/10)	738	0,162	0,580	0,418



Método de control de calidad

Immunology Control Level 1 de Laborlab. El control es procesado de la misma manera que las muestras.

Valores de referencia

200 a 360 mg/dl (2,0 a 3,6 g/l)

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia.

Conversión de unidades al sistema SI

TRF (mg/dl) x 0,01 = TRF (g/l)

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Se recomienda realizar una recalibración completa, cuando se cambia de lote de reactivo o cuando el control de calidad así lo determina.

Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

Performance

a) Reproducibilidad: se evaluó a través de una modificación del protocolo EP5-A del CLSI. Para ellos se procesaron muestras con distintos niveles de TRF. Con los datos obtenidos se calculó la precisión intraensayo y total.

Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
208 mg/dl	± 1,5 mg/dl	0,7%
238 mg/dl	± 2,0 mg/dl	0,9%
377 mg/dl	± 2,8 mg/dl	0,7%

Precisión total

Nivel	D.S.	C.V.
208 mg/dl	± 3,8 mg/dl	1,8%
238 mg/dl	± 4,6 mg/dl	2,0%
377 mg/dl	± 6,3 mg/dl	1,7%

b) Límite de detección: es la mínima cantidad del analito capaz de ser detectada como una muestra distinta de cero y corresponde a la concentración de 3,8 mg/dl de TRF.

c) Rango de medición: corresponde al intervalo de valores exactamente cuantificables y se extiende de 30 a 600 mg/dl de transferrina.

d) Efecto prozona: no se evidencia efecto prozona hasta 3000 mg/dl de transferrina.

Estos datos de performance fueron obtenidos empleando analizador automático Konelab 60i, por lo tanto dichos valores pueden variar cuando se emplea otro analizador o técnica manual.

Parámetros para analizadores automáticos

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

Presentación

30 ml:

- 1 x 25 ml **Reactivo A**

- 1 x 5 ml **Reactivo B**

(Código 1770550)

60 ml:

- 1 x 50 ml **Reactivo A**

- 1 x 10 ml **Reactivo A**

(Código 1779659)

Bibliografía

- Tietz Fundamentals of clinical chemistry - Burtis, C., Ashwood, E. (5ª Edition) WB Saunders, 2001.

- Young, DS. - Effects of preanalytical variables on clinical laboratory test. AACCPress - Third Edition, 2007.

- Kasvosve, I; Delanghe, J. 2002 - Clin. Chem. Lab. Med. 40/10:1014, 2002.

- Bandi, ZL; Schoen, I; Bee DE. - Clin Chem. 31/10:1601, 1985.

- EP5-A Vol. 24 N° 25 del CLSI - Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods (approved guideline - second edition).

- EP17-A2 Vol. 24 N° 34 del CLSI - Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline.

SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP- Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br