

Transferrina MonlabTest® Turbidimetría



Determinación cuantitativa de Transferrina (TRF)

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

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 atranferretinemia 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	Multicalibrador Proteínas (MO-165044)

CALIBRACIÓN

El ensayo está calibrado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el Multicalibrador Proteínas MonlabTest 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.

PREPARACIÓN

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de calibración: Preparar las siguientes diluciones del Multicalibrador Proteínas MonlabTest 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)	--	6,25	12,5	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	93,75	87,5	75	50	-
Factor	0	0,0625	0,125	0,25	0,5	1,0

CONSERVACIÓN 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 su funcionalidad.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatizable 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 (A₁) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2 (µL) 200

7. Mezclar y leer la absorbancia (A₂) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Monlab dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de los analizadores automáticos del mercado.

CÁLCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias (A₂-A₁) 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 (A₂- A₁) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. MONLAB dispone del Multicontrol Proteínas MonlabTest (MO-165045).

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.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: hasta el valor del calibrador (aprox. 800 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	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%

Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método Image de Beckman. 100 muestras de TRF de concentraciones entre 50 y 700 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r²) 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 (20 g/L), lípidos (9 g/L) y factores reumatoides (300 UI/mL), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir^{5,6}.

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.

BIBLIOGRAFÍA

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.

PRESENTACIÓN

MO-165039

R1: 1 x 40 mL

R2: 1 x 10 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad



Transferrin MonlabTest®

Turbidimetry.



Quantitative determination of Transferrin (TRF)

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 2-8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

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

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	Multicalibrator Protein (MO-165044)

CALIBRATION

The assay has been standardized against the Reference Material ERM-DA470k/IFCC. It must be used the Multicalibrator Protein MonlabTest 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 for use.

Calibration curve: Prepare the following Multicalibrator Protein MonlabTest dilutions in NaCl 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)	--	6.25	12.5	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	93.75	87.5	75	50	-
Factor	0	0.0625	0.125	0.25	0.5	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: 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 thermostable 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:.....1 cm
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

MONLAB 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. Multicontrol Protein MonlabTest (MO-165045) 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

Measurement range: Up to the calibrator value (approx. 800 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 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%

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)² 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 (20 g/L), bilirubin (20 mg/dL), rheumatoid factors (300 IU/mL) and lipemia (9 g/L), do not interfere. Other substances may interfere^{5,6}.

NOTES

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

MO-165039 R1: 1 x 40 mL
R2: 1 x 10 mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by

