



Para la determinación de transferrina en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

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 METODO

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
- **Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA y Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

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 REACCION

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

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

PROCEDIMIENTO

CURVA DE CALIBRACION

En tubos de Khan, realizar las siguientes diluciones en solución fisiológica del **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA**: 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, utilizar solución fisiológica como punto cero.

Reactivo A	1000 ul
-------------------	---------

Calibrador Proteínas diluido	30 ul
-------------------------------------	-------

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 ul
-------------------	--------

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 ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) 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 ul
-------------------	---------

Muestra diluida	30 ul
------------------------	-------

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 ul
-------------------	--------

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 ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) 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 Proteínas nivel alto deben ser diluidas 1:2 con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por dos.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Control Inmunológico nivel 1 o **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** de Wiener lab. 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.

CONVERSION 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.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1999703)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009347)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009220)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009659)

BIBLIOGRAFIA

- Tietz Fundamentals of clinical chemistry - Burtis, C., Ashwood, E. (5° 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 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

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 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 / Caústico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-39



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina