

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 baixos 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 (-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 triglicérides 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 ul

- Volume final de reação: 1230 ul

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 ul |
| Protein Calibrator diluído | 30 ul |

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO₁) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

| | |
|------------|--------|
| Reagente B | 200 ul |
|------------|--------|

Homogeneizar e incubar 10 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 340 nm (DO₂) dentro dos dez minutos, zerando o aparelho com água destilada.

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) 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 ul |
| Amostra diluída | 30 ul |

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO₁) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

| | |
|------------|--------|
| Reagente B | 200 ul |
|------------|--------|

Homogeneizar e incubar 10 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 340 nm (DO₂) dentro dos dez minutos, zerando o aparelho com água destilada.

Cálculos dos resultados

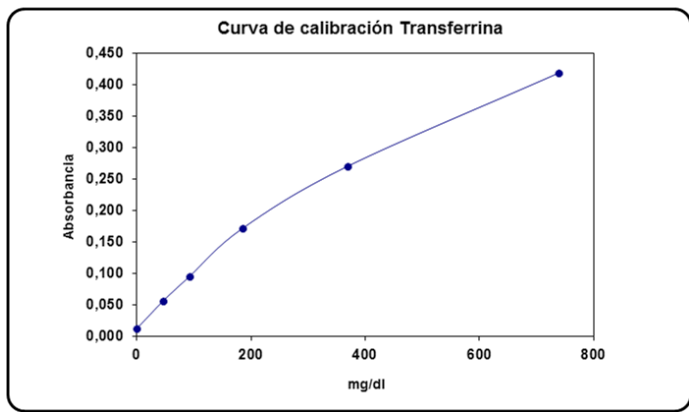
Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolar a ΔA na curva de calibração para determinar a concentração de TRF em mg/dl.

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 $\Delta A (DO_2 - DO_1)$ |
|----------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------------|
| 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 performance 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)

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 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 .

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.



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