

TURB TRF - Transferrina TRF

Finalidade:

Reagente utilizado na determinação quantitativa de Transferrina no soro humano por imunoturbidimetria. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

A turbidimetria baseia-se na detecção ótica de partículas muito pequenas suspensas em líquido. Quando o anticorpo específico para a Transferrina reage com a TRF presente na amostra (antígeno) formam-se os imunocomplexos insolúveis que induzem uma turbidez, medida por espectofotometria a 340nm. Essa turbidez é diretamente proporcional à concentração da transferrina na amostra.

Metodologia:

Imunoturbidimetria

Significado Clínico:

A transferrina (TRF siderofílina) é uma glicoproteína sintetizada no fígado, e é a principal proteína do plasma para o transporte de ferro. A sua concentração está correlacionada à capacidade total de ligação do ferro (TIBC) do soro.

As dosagens dos níveis de transferrina no plasma são úteis para o diagnóstico diferencial das anemias e para monitorar o seu tratamento. As causas de síntese diminuída e baixos níveis no plasma são a doença hepática crônica, má nutrição e perda de proteínas, como na síndrome nefrótica ou enteropatias com perda de proteínas. Ocorrem altos níveis de transferrina na gravidez e durante a administração de estrogênio.

Reagentes:

Reagente 1- Diluente: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Tampão Imidazole pH 7, PEG, cloreto de sódio, azida de sódio (<1g/l)

Reagente 2 - Anticorpo: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém:

Anticorpo de transferrina humana (título ≥ 2 mg/ml) em pH 7.4

Tampão de HEPES, estabilizadores e azida de sódio (<1g/l)

Os reagentes estão prontos para uso e quando não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade. e.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para uso diagnóstico "in vitro".

Os produtos de origem humana foram testados e estão livres de HBsAg e anticorpos para HCV e HIV, porém este material deve ser tratado cuidadosamente como potencialmente infecioso. o.

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante. Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se o reagente apresentar turbidez, presença de precipitado e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C.
- Espectrofotômetro ou fotômetro capaz de medir absorbância em 340nm.
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Calibrador e controles Ebram.
- Medidor de tempo.
- Tubo de ensaio

Amostra:

É recomendado soro livre de hemólise. A Transferrina é estável no soro por 48 horas se for refrigerado entre 2 - 8°C. Para período mais prolongado, congelar a amostra (-20°C) por no máximo 3 meses (congelar somente uma vez). Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

Não é necessário jejum. Todavia, poderá ser modificado seguindo orientação médica

Interferências:

Triglicérides até 2500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, hemoglobina 1000 mg/L, Turbidez 5%, citrato de sódio até 1000 mg/dL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da transferrina, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 340 nm.
Tipo de Reação: Ponto final
Direção: Crescente
Pré-diluição da amostra: 1:5
Vol. Amostra diluída: 10µL
Vol. do Diluente : 250µL
Vol. do Anticorpo: 50µL
Tempo de Incubação: 10min

Calibração:

Utilizar o calibrador Turbcalib - Calibrador Turbidimétrico Ebram - Cód. 1042. A concentração da Transferrina no calibrador é rastreável ao material de referência CRM470 (Preparação de referência para proteínas séricas humanas, certificada em conjunto pelo Colégio Americano de Patologistas, Communal office of Reference e Federação Internacional de Química Clínica (IFCC)

Procedimento Automatizado:

Vide manual para utilização do equipamento, protocolo específico e instruções de uso do reagente.

Para analisadores onde não seja possível o preparo automático da curva de calibração, deve-se seguir orientação do preparo dos pontos de calibração descrito, em Preparo da Curva de Calibração para Analisadores Automáticos, no verso dessa instrução de uso.

Procedimento Manual:

Pré-diluir as amostras e os controles, em fisiológica, na razão 1:5 (100µl de amostra + 400µl de solução fisiológica).

PREPARO DOS PONTOS DE CALIBRAÇÃO

Identificar 6 tubos de ensaios (1 a 6).

Adicionar ao tubo 1, 400µl de solução fisiológica + 100µl de calibrador. Homogeneizar.

Adicionar aos tubos 2 a 6, 250µl de solução fisiológica.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 1 para o tubo 2.

Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 2 para o tubo 3.

Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 3 para o tubo 4.

Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 4 para o tubo 5.

Homogeneizar.

Tubo1 Tubo2 Tubo3 Tubo4 Tubo5 Tubo6

Fator de diluição 1.0 0.5 0.25 0.125 0.063 0

Obs: a concentração de cada ponto é obtida multiplicando-se a concentração do calibrador pelo fator de diluição

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Separar tubos de ensaio para cada ponto de calibração, branco, amostra / soro controle e realizar os procedimentos conforme tabela abaixo:

	Brancos	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	10µL	-	-
Pontos de Calibração	-	10µL	-
Amostra/S.C. dil 1:5	-	-	10µL
Reagente R1	250µL	250µL	250µL

Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A1) à 340 nm zerando o aparelho com água destilada.

Reagente R2 50µL 50µL 50µL

Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A2) à 340 nm zerando o aparelho com água destilada.

Cálculos:

Abs.= Absorbância

1.A Abs final dos pontos de calibração =
(A2 - A1) dos pontos de calibração - (A2 - A1) branco do reagente

2. Confecção da Curva de calibração

-Em um papel milimetrado plotar as absorbâncias finais, dos pontos de calibração no eixo das ordenadas. (eixo y)

-Plotar as concentrações de cada ponto de calibração, na ordem crescente, no eixo das abscissas. (eixo x)

3.A Abs final de amostra =

(A2 - A1) amostra - (A2 - A1) branco do reagente

-Interpolar as absorbâncias finais de cada amostra / soro controle, na curva de calibração para determinar a respectiva concentração.

Exemplo:

1.Abs.Final do ponto de calib.= (A2 - A1)calib - (A2 - A1)branco

Abs.Final do ponto de calib.= (0,625 - 0,142) - (0,120 - 0,080)

Abs.Final do ponto de calib.= 0,443

obs: realizar esse cálculo para todos os pontos da curva de calibração.

2.Abs.Final de amostra = (A2 - A1) amostra - (A2 - A1)branco

Abs.Final de amostra = (0,295 - 0,098) - (0,140 - 0,075)

Abs.Final de amostra = 0,132

Utilizar a curva de calibração no papel milimetrado para obter as concentrações das amostras.

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 1680mg/dL. Valores superiores, diluir a amostra com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado pela fator de diluição. A linearidade pode variar consideravelmente dependendo do instrumento utilizado. O limite da linearidade depende da relação de amostra/reagente. Aumenta reduzindo o volume da amostra, enquanto que a sensibilidade do ensaio diminuirá proporcionalmente.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição segundo as Boas Práticas de Laboratório Clínico. Aconselhamos uso do Turbcontrol - Controle Turbidimétrico Ebram - cód.1043.

Valores Esperados:

Adultos: 200 - 400 mg/dL.

Recém-nascidos: 130 - 275 mg/dL.

Crianças de 3 meses à 16 anos: 203 - 360 mg/dL.

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

A comparação com Nefelometria nos proporcionou os seguintes resultados: $y = 0.9878x - 0.2018$; $r = 0.9986$

Precisão:

* Intra – Precisão analisada

3 amostras de soro foram consecutivamente dosadas 20 vezes no Cobas Mira.

Valores Esperados	n	Média	S.D.	C.V.
Baixo	20	97.6	4.66	4.78
Médio	20	252.7	3.29	1.30
Alto	20	387.1	3.02	0.78

* Inter-Precisão de exame

2 soros controle foram dosados diariamente no Cobas Mira depois da calibração.

Valores Esperados	n	Média	S.D.	C.V.
Ortho	20	174	4.28	2.46
Ortho	20	95	4.41	4.64

Exatidão:

Os controles são analisados em duplicitate no Cobas Mira.

Controle	Valores analisados	Valores das Medidas (mg/dl)
Ebram	333 (283 - 382)	331
Liquicheck 1	328 (262 - 394)	354
Liquicheck 2	196 (167 - 225)	207
Seronom L	319 (271 - 367)	328
Seronom N	441 (375 - 507)	406
Seronom H	146 (124 - 168)	154

Sensibilidade Metodológica:

9,1 mg/dL

Especificidade:

Nos estudos comparativos realizados apresentamos dados determinados em um analisador. A comparação com soros controles já validados mostrou uma especificidade analítica adequada.

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 1 , megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Automação: R1= 1 x 25mL + R2= 1 x 3mL - Cód.1039

Linha H917: R1 = 1 x 60mL + R2= 1 x 13mL - Cód.6139

Linha SAT450: R1 = 1 x 45mL + R2= 1 x 9mL - Cód.11139

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com.

Referência Bibliográfica:

1.Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, (1994).

2.Roitt, I., Essential Immunology, Blackwell, Oxford, (1991).

3.Watchel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals, Laboratory Medicine, 1996; 26:593-7.

4. Arquivos da Ebram.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	D-R-S-SR1
Calibration Mode:	STD NON LINEAR (ou LOGIT/LOG 4)
Reagent Blank:	REAG/DIL
Cleaner:	NO
Wavelength:	340nm
Decimal Position:	2
Unit:	µmo/dL
ANALYSIS	
Dilution Name: NaCl (***)	STD: Main Indirect
Factor: 10.00	Main STD: (* X 10
Time: NO	Sample Dil Name: NaCl
Post Dil Factor: 2.00	Conc. Factor:
Sample:	Cycle: 1
Volume: 7.0 µL	Dil: 0.0 µL
Reagent:	Cycle: 1
Volume: 150 µL	Dil: 0.0 µL
Start Reagent 1:	Cycle: 12
Volume: 30.0 µL	Dil: 0.0 µL
Start Reagent 2:	Cycle: 1
Volume: Dil:	
CALCULATION	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	ON
High:	ON
Norm Range Low:	NO
High:	NO
Number of Stns:	1
Calculation Stan A:	ENDPOINT
Readings_ First:	11
Last:	24
Reaction Limit:	
Point:	
Calib. Interval:	
CALIBRATION	
ON REQUEST	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low: NO	Blank Range Low: NO
High: NO	High: NO
Factor:	
Calibrator Pos:	(***)
STD1: (*)	STD2: (*) /2
STD3: (*) /4	STD4: (*) /8
STD5: (*) /16	STD6: 0.0
STD7: NO	STD8: NO
Calc Model:	LOGIT/LOG 4
Correction STD:	NO
Replicate:	SINGLE
Deviation:	NO
CONTROL	
CS1 - NO	
CS2 - NO	
CS3 - NO	

(*) colocar a concentração do calibrador (TurbCalib)

(**) colocar a posição do calibrador (TurbCalib) na rack Cal/CS (a curva de calibração será realizada automaticamente pelo analisador)

(***) O NaCl (Dilution Name) deverá ser cadastrado em PROG 6 (System parameters) na opção 2 (Diluent Name).

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: Transferrina	Test: TRF			
Test Bar Code: TRF				
Test Type: END POINT	Curve Type: 2-log5			
Units: µmo/dL	Nº of Decimal Places: 2			
Primary Wavelength: 340 nm	Secondary Wavelength:			
Read Time Interval: 20	Sample Blank: Yes			
Factor: 1.0000				
Calibration Interval: 999				
Normalization Interval: 999				
Nº of Calibrators: 6	Nº of Replicates: 1			
Low Blank A Limit: -0.100	High Blank A Limit: 1.000			
Low A Limit: -0.1000	High A Limit: 2.000			
Low Normal: 200	High Normal: 400			
Linearity Limit:	Curve S D Limit: 10.000			
Test Name: Transferrina	Test: TRF			
Test Bar Code: TRF				
Sample Volume: 7 µL	Sample Diluent: saline			
Rerun Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 10			
Reagent Dilution: saline				
	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 1	250	TRF1	240 sec	
Reagent 2	30	TRF2	20 µL	300 sec
Reagent 3				
Reagent 4				
Controle:				

APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA PLUS

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	D-R-S-SR1
Calibration Mode:	LOGIT / LOG4
Reagent Blank:	REAG/DIL
Cleaner:	NO
Wavelength:	340nm
Decimal Position:	2
Unit:	µmo/dL
ANALYSIS	
Dilution Name: NaCl (***)	STD: Main Indirect
Factor: 10.00	Main STD: (* X 10
Time: NO	Sample Dil Name: NaCl
Post Dil Factor: 2.00	Conc. Factor: NO
Pos:	(***)
STD1: 10.00	STD2: 2.00
STD3: 2.00	STD4: 2.00
STD5: 2.00	STD6: 0.00
STD7: NO	STD8: NO
Sample:	Cycle: 1
Volume: 7.0 µL	Dil: 0.0 µL
Reagent:	Cycle: 1
Volume: 150 µL	Dil: 0.0 µL
Start Reagent 1:	Cycle: 12
Volume: 30.0 µL	Dil: 0.0 µL
Start Reagent 2:	Cycle: 1
Volume: Dil:	
CALCULATION	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	ON
High:	ON
Norm Range Low:	NO
High:	NO
Number of Stns:	1
Calculation Stan A:	ENDPOINT
Readings_ First:	11
Last:	24
Reaction Limit:	
Point:	
Calib. Interval:	
CALIBRATION	
ON REQUEST	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low: NO	Blank Range Low: NO
High: NO	High: NO
Factor:	
Calibrator Pos:	
STD1: (***)	STD2: (***)
STD3: (***)	STD4: (***)
STD5: (***)	STD6: (***)
STD7: (***)	STD8: (***)
Calc Model:	
Correction STD:	NO
Replicate:	SINGLE
Deviation:	NO
CONTROL	
CS1 - NO	
CS2 - NO	
CS3 - NO	

(*) colocar a concentração do calibrador (TurbCalib)

(**) colocar a posição do calibrador (TurbCalib) na rack Cal/CS (a curva de calibração será realizada automaticamente pelo analisador)

(***) inserido automaticamente pelo Cobas Mira Plus
Obs: O NaCl (Dilution Name) deverá ser cadastrado em PROG 6 (System parameters) na opção 2 (Diluent Name).

PREPARO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANALISADORES QUE NÃO REALIZAM A CURVA AUTOMATICAMENTE

(Ex. Express e Selectra)

Preparar 6 tubos e identificá-los de 1 a 6.

Adicionar ao tubos 1 a 5, 500 µL de Solução Fisiológica e ao tubo 6, 900 µL de Solução Fisiológica. Acrescentar ao tubo 6, 100 µL de calibrador TURBCALIB. Homogeneizar.

Transferir 500 µL do conteúdo do tubo 6 para o tubo 5. Homogeneizar.

Transferir 500 µL do conteúdo do tubo 5 para o tubo 4. Homogeneizar.

Transferir 500 µL do conteúdo do tubo 4 para o tubo 3. Homogeneizar.

Transferir 500 µL do conteúdo do tubo 3 para o tubo 2. Homogeneizar.

Posição 1 2 3 4 5 6

Diluição 1:180 1:80 1:40 1:20 1:10

Fator 0 0,025 0,125 0,25 0,5 1,0

Obs: a concentração de cada tubo é determinada pela concentração do calibrador multiplicado pelo fator.

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	TRF
Abbr Name:	TRF
Mode:	ENDPOINT
Wavelength:	340 nm
Units:	µmo/dL
Decimals:	2
Low Conc:	50 µmo/dL
High Conc:	800 µmo/dL
Calibrator Name:	TurbCalib
Repeat:	1
Number:	6
Concentration:	
Interval:	30 dias
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	200 µmo/dL
Ref Male High:	380 µmo/dL
Ref Female Low:	200 µmo/dL
Ref Female High:	380 µmo/dL
Ref Ped Low:	0.00 µL
Ref Ped High:	0.00 µL
Control 1:	None
Control 2:	None
Control 3:	None
Conc Factor:	a = 1.000
Conc Factor Offset:	b = 0.000 µmo/dL
DUAL MODE	
Name:	TRF
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 mL
Normal Volume:	250 µL
Rerun Volume:	250 µL
SAMPLE	
Normal Volume:	7 µL
Rerun Volume:	7 µL
R2 Bottle:	5 mL
Normal Volume:	30 µL
Rerun Volume:	30 µL
Predilution:	1:10 DIL
Stone Blank:	NO
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Point One, Two:	
Incubation Time:	6.5 min
Low Absorbance:	-0.100 Abs
High Absorbance:	3.000 Abs
R ABS L Limit:	-0.100 Abs
R ABS H Limit:	3.000 Abs
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	Yes (0.000)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	
MONO MODE	
Name:	
Sample Blank:	
R1 Bottle:	
Normal Volume:	
Rerun Volume:	
SAMPLE	
Normal Volume:	
Rerun Volume:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	
Point One, Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	
High Absorbance:	
R ABS L Limit:	
R ABS H Limit:	
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	

(*) concentração do calibrador (TurbCalib)
(**)
(***)
(#)

Antes da curva de calibração deve-se realizar um branco do reagente

Dispomos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.