

Transferrin

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of Transferrin (TRF) in human serum by turbidimetric assay

REF	Content
A00515M	1x 10 mL Transferrin Antibody Reagent 5x 25 mL PBS Buffer <i>automated Test Procedure without Sample Dilution</i> <i>manual Test Procedure with/without Sample Dilution</i>
A00515A	1x 10 mL Transferrin Antibody Reagent 5x 25 mL PEG4 Buffer <i>automated Test Procedure with Sample Dilution</i>
Additionally offered:	
A00960	5x 1 mL Transferrin Calibrator 5 Level Series
A00580	1x 1 mL Protein Calibrator High
A00703	1x 5 mL Protein Calibrator High
A00701	1x 1 mL Protein Calibrator Low
A00702	1x 5 mL Protein Calibrator Low
A00590	1x 1 mL Protein Control
A00800	1x 5 mL Protein Control
A08591	1x 1 mL Protein Control Low
A08823	1x 5 mL Protein Control Low

GENERAL INFORMATION

Method	Immunoturbidimetric
Reaction	Nonlinear, endpoint
Wavelength	340 nm
Assay Temperature	18 – 37 °C
Sample	Serum
Measuring Range	approx. 0 – 500 mg/dL
Sensitivity	40 mg/dL (Cobas Mira)
Hook Effect	without sample dilution: > 2,500 mg/dL (Cobas Mira) with sample dilution: > 4,000 mg/dL (Cobas Mira)
Manual Test Procedure	Tests/Kit*
without sample dilution	125
with sample dilution	250
Automated Test Procedure	Instrument dependent – please ask for applications
* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request	

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS	FINAL CONCENTRATION
Transferrin Antibody Reagent	
Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for Transferrin	
Sodium azide	variable
	0.095 %
PBS Buffer (A00515M)	
Phosphate buffered saline	
Sodium azide	0.095 %
PEG4 Buffer (A00515A)	
Phosphate buffered saline	
PEG	4 %
Sodium azide	0.095 %

REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions:	Protect from light. Close immediately after use.
Stability:	at 2 – 8 °C up to the expiration date at 18 – 25 °C 1 month

Do not freeze!

SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability:	at 2 – 8 °C 48 hours at – 20 °C 3 months
-------------------	---

Freeze only once!

MANUAL TEST PROCEDURE (FOR REF A00515M)

Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator with 0.9% saline as diluent or use the 5 level calibrator series. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	5 µL	5 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	80 µL	80 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	25 µL	25 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	40 µL	40 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

CALCULATION

Calculate and plot $\Delta A = (A2 - A1)$ of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate ΔA optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

REFERENCE RANGE

Men & Women: 170 – 340 mg/dL

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of Transferrin is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG.

DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

Iron binding protein, binds ferric ions preventing iron intoxication and loss via kidneys. Increased levels are found in iron deficiency, pregnancy, oestrogen administration and lipoidal nephrosis. Decreased levels may be encountered in hereditary deficiencies, testosterone administration, infection, acute inflammation, some forms of nephrosis, tumors, haemochromatosis, acute malaria and malnutrition.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

40 mg/dL (Cobas Mira)

ACCURACY

Controls were measured on the Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Liquicheck 1 (BIORAD)	142 (114 - 171)	153
Liquicheck 2 (BIORAD)	328 (262 - 394)	354
Seronorm L (NYCOMED)	196 (167 - 225)	207
Seronorm N (NYCOMED)	319 (271 - 367)	328
Seronorm H (NYCOMED)	441 (375 - 507)	406
Immunol. 1 (CIBA CORNING)	146 (124 - 168)	154
Immunol. 2 (CIBA CORNING)	446 (379 - 513)	440

PRECISION

Intra-Assay Precision

3 Serum Samples were consecutively measured 20x on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	20	97.6	4.66	4.78
Medium	20	252.7	3.29	1.30
High	20	387.1	3.02	0.78

Inter-Assay Precision

2 Control sera (ORTHO) were measured daily on the Hitachi 717 analyzer after calibration.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Ortho 1	20	174	4.28	2.46
Ortho 2	20	95	4.41	4.64

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 0.9878x - 0.2018$; $r = 0.9636$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Triglycerides	2500 mg/dL	Hemoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Sodium Citrate	1000 mg/dL
Heparin	50 mg/dL		

QUALITY CONTROL

All commercially available Control sera with Transferrin values measured by this method may be used. We recommend the Dialab Protein Control and the Protein Control Low.

CALIBRATION

The assay requires the use of Transferrin serum Calibrators. We recommend the Dialab Transferrin Calibrator 5 Level Series, the Protein Calibrator High or the Protein Calibrator Low.

AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

WARNINGS AND PRECATIONS

- The Transferrin reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

REFERENCES

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)



Transferrin

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von Transferrin (TRF) in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF	Inhalt
A00515M	1x 10 mL Transferrin Antikörperreagenz 5x 25 mL PBS Puffer <i>automatische Testprozedur ohne Probenverdünnung</i> <i>manuelle Testprozedur mit/ohne Probenverdünnung</i>
A00515A	1x 10 mL Transferrin Antikörperreagenz 5x 25 mL PEG4 Puffer <i>automatische Testprozedur mit Probenverdünnung</i>

Zusätzlich wird angeboten:

A00960	5x 1 mL Transferrin Kalibrator 5 Level Serie
A00580	1x 1 mL Protein Kalibrator Hoch
A00703	1x 5 mL Protein Kalibrator Hoch
A00701	1x 1 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00702	1x 5 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00590	1x 1 mL Protein Kontrolle
A00800	1x 5 mL Protein Kontrolle
A08591	1x 1 mL Protein Kontrolle Niedrig
A08823	1x 5 mL Protein Kontrolle Niedrig

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode:	Immunoturbidimetrisch
Reaktion:	Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge:	340 nm
Testtemperatur:	18 – 37 °C
Probe:	Serum
Messbereich:	ca. 0 – 500 mg/dL
Sensitivität:	40 mg/dL (Cobas Mira)
Hook-Effekt	ohne Probenverdünnung: > 2.500 mg/dL (Cobas Mira) mit Probenverdünnung: > 4.000 mg/dL (Cobas Mira)

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*

ohne Probenverdünnung	125
mit Probenverdünnung	250

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

REAGENZENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN	ENDKONZENTRATION
Transferrin Antikörperreagenz	
Turbidimetrie-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für	
Transferrin	variabel
Natriumazid	0.095 %

PBS Puffer (für A00515M)

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung	
Natriumazid	0.095 %

PEG4 Puffer (für A00515A)

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung	
PEG	4 %
Natriumazid	0.095 %

REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Bedingungen:	Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.	
Haltbarkeit:	bei 2 – 8 °C	bis zum Verfallsdatum
	bei 18 – 25 °C	1 Monat

Nicht einfrieren!

PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Haltbarkeit:	bei 2 – 8 °C	48 Stunden
	bei – 20 °C	3 Monate

Nur einmal einfrieren!

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG (FÜR REF A00515M)

Testdurchführung ohne Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig

Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen oder die 5 Level Kalibratorserie verwenden. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	5 µL	5 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	80 µL	80 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9% Kochsalzlösung verdünnen

Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	25 µL	25 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	40 µL	40 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

BERECHNUNG

Das $\Delta A = (A2 - A1)$ jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebenen Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die ΔA optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

REFERENZBEREICH

Männer & Frauen: 170 – 340 mg/dL

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für Transferrin basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Eisenbindendes Protein bindet Eisen-Ionen und verhindert so Eisenvergiftung und –verlust über die Nieren. Erhöhte Werte findet man bei Eisenmangel, Schwangerschaft, Östrogen-Verabreichung und lipoidaler Nephrose. Erniedrigte Werte findet man bei angeborenen Schwächen, Testosteron-Verabreichung, Infektion, akuter Entzündung, einige Formen von Nephrose, Tumoren, Hämochromatose, akuter Malaria und Mangelernährung.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

40 mg/dL (Cobas Mira)

GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden auf dem Cobas Mira gemessen.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Liquicheck 1 (BIORAD)	142 (114 - 171)	153
Liquicheck 2 (BIORAD)	328 (262 - 394)	354
Seronorm L (NYCOMED)	196 (167 - 225)	207
Seronorm N (NYCOMED)	319 (271 - 367)	328
Seronorm H (NYCOMED)	441 (375 - 507)	406
Immunol. 1 (CIBA CORNING)	146 (124 - 168)	154
Immunol. 2 (CIBA CORNING)	446 (379 - 513)	440

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

3 Serumproben wurden nacheinander je 20x auf dem Cobas Mira gemessen.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	97.6	4.66	4.78
Mittel	20	252.7	3.29	1.30
Hoch	20	387.1	3.02	0.78

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration wurden 2 Kontrollseren (ORTHO) täglich auf dem Hitachi 717 Analyzer gemessen.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Ortho 1	20	174	4.28	2.46
Ortho 2	20	95	4.41	4.64

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:

$$y = 0.9878 x - 0.2018; r = 0.9636$$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Triglyceride	2500 mg/dL	Hämoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Natrium-Citrat	1000 mg/dL
Heparin	50 mg/dL		

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle kommerziell erhältlichen Kontrollseren, bei denen Transferrin mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Protein Kontrolle und die Protein Kontrolle Niedrig.

KALIBRATION

Für diesen Test werden Transferrin Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen die Dialab Transferrin Kalibrator 5 Level Serie, den Protein Kalibrator Hoch oder den Protein Kalibrator Niedrig.

AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Transferrin Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet

ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

BIBLIOGRAPHIE

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989).

