

IBC
IBC | UIBC
Ref. 12.010.00

Responsável Técnico:
Dr. Gilson Sérgio Pizzo
CRF MG – 5310
MS 80027310242

FINALIDADE
Kit destinado à determinação da Capacidade de Ligação de Ferro no soro. Uso em diagnóstico *in vitro*.

- CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEIO**
- Conservar de 2 a 8 °C.
 - Manter ao abrigo da luz.
 - A validade do kit está impressa no rótulo da embalagem.
 - Não usar reagentes com validade expirada.


PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO
Os íons ferro presentes no R1 saturam os sítios disponíveis da Transferrina presente na amostra. O excesso de ferro não ligado reage com o cromógeno ferrozine para formar um complexo colorido, que apresenta um máximo de absorção em 560 nm. A diferença entre quantidade total de ferro contida no R1 e quantidade determinada para a amostra corresponde à Capacidade Latente de Ligação de Ferro da amostra. A Capacidade Total de Ligação de Ferro é a soma da Capacidade Latente de Ligação do Ferro com o Ferro sérico.

AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO
Tipo de Amostra: Soro.


Coleta, manuseio e preparo: Realizar a coleta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
Centrifugar e separar o soro dentro de duas horas após a coleta.

Preservação: A amostra é estável por 6 meses em temperatura de - 20 °C.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

R 1 Tampão TRIS ≥ 100 mmol/L; cloreto férrico ≥ 10 µmol/L; detergente; estabilizante; conservante. 

R 2 Tampão TRIS ≥ 10 mmol/L; Ácido Ascórbico ≥ 20 mmol/L; Ferrozine ≥ 2,0 mmol/L; estabilizante.

CAL Soro humano liofilizado contendo transferrina humana, estabilizantes e conservantes. Valor impresso no rótulo do frasco. Rastreável ao material de referência NIST SRM-937. 

ESTABILIDADE EM USO

- **R1 e R2:** Após abertos, os reagentes em uso são estáveis até a validade impressa no rótulo, desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (2 a 8°C).
- **CAL:** Após reconstituído, o calibrador é estável por 5 dias se conservado em temperatura de 2 a 8 °C e 30 dias em temperatura de - 20 °C.
- Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.

TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO

A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES
R1 e R2: Reagentes prontos para uso.
CAL: Liofilizado. Reconstituir com 1,5 mL de água purificada. Deixar em repouso por 30 minutos. Misturar por inversão suave evitando a formação de espuma.

B) INTERVALO OPERACIONAL
O intervalo operacional do produto é de 39,8 µg/dL a 469 µg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

CONTROLE DE QUALIDADE
O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor em outra faixa de significância clínica. Para o Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso dos soros controle abaixo:

Soro Controle Normal – Quantinorm	REF	13.003.00
Soro Controle Patológico - Quantialt		13.004.00

PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO
1. Pipetar em tubos de ensaio:

	Branco	Teste	Calibrador
R1	0,75 mL	0,75 mL	0,75 mL
Amostra	----	0,1 mL	----
CAL	----	----	0,1 mL
Água purificada	0,1 mL	----	----

2. Homogeneizar suavemente. Incubar por 5 minutos a 37 °C.
3. Medir a absorbância do Branco, Teste e Calibrador em 560nm (525-575), acertando o zero com água purificada. Esta será a absorbância A₁.

4. Adicionar:

	Branco	Teste	Calibrador
R2	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL

5. Homogeneizar suavemente e incubar 5 minutos a 37 °C.
6. Medir a absorbância do Branco, Teste e Calibrador em 560nm (525-575). Esta será a absorbância A₂. A cor é estável por 30 minutos.

B) CÁLCULOS
As absorbâncias A₁ devem ser corrigidas para o volume final da reação, obtendo-se a A_{1COR}, conforme equação abaixo:

$$A_{1COR} = A_1 \times 0,809$$

Determinar o ΔA do Branco, Teste e CAL: A₂ - A_{1COR}.
Para os cálculos utilizar a diferença de absorbância (A₃) entre o CAL/Teste e o Branco:

A₃ CAL: ΔA Branco - ΔA CAL
A₃ Teste: ΔA Branco - ΔA Teste

Capacidade Latente de Ligação do Ferro:

$$CLLF (\mu\text{g/dL}) = \frac{A_3 \text{ Teste}}{A_3 \text{ CAL}} \times \text{Concentração do CAL}$$

Exemplo:
Branco:
A₁ = 0,003 A_{1COR} = 0,003 x 0,809 = 0,002
A₂ = 0,700 ΔA Branco = 0,700 - 0,002 = 0,698

CAL:
Concentração do CAL = 287 µg/dL
A₁ = 0,056 A_{1COR} = 0,056 x 0,809 = 0,045
A₂ = 0,645 ΔA CAL = 0,645 - 0,045 = 0,600
A₃ = 0,698 - 0,600 = 0,098

Teste:
A₁ = 0,027 A_{1COR} = 0,027 x 0,809 = 0,022
A₂ = 0,658 ΔA Teste = 0,658 - 0,022 = 0,636
A₃ = 0,698 - 0,636 = 0,062

CLLF (µg/dL) = $\frac{0,062}{0,098} \times 287 = 182 \mu\text{g/dL}$

Capacidade Total de Ligação do Ferro:
CTLF (µg/dL) = Ferro Sérico + CLLF

% de Saturação da Transferrina:

$$\text{Saturação da Transferrina (\%)} = \frac{\text{Ferro Sérico}}{\text{CTLF}} \times 100$$

C) INTERPRETAÇÃO
Cerca de 1 mg de ferro é absorvido diariamente. Uma vez nas células mucosas, os íons Fe²⁺ se ligam a transportadores. Antes de passar para o plasma, estes são oxidados pela ceruloplasmina a Fe³⁺ e se ligam à apotransferrina. O complexo apotransferrina-Fe³⁺ é chamado transferrina que faz o transporte dos íons de ferro no plasma sanguíneo. Aproximadamente um terço dos sítios de ligação da transferrina estão ocupados pelo Fe³⁺, assim a quantidade adicional de ferro que pode ser ligada é a capacidade latente de ligação do ferro (CLLF). A soma do ferro sérico com a CLLF representa a capacidade total de ligação do ferro (CTLF). A CTLF varia em desordens do metabolismo do ferro. Em anemia por deficiência de ferro a CTLF é elevada e a saturação da transferrina é baixa. Baixas concentrações de ferro no soro associadas com baixa CTLF pode ocorrer em casos de anemia crônica, tumores malignos ou infecções.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES
Hemólise, Ictericia e Lipemia: Hemoglobina > 150 mg/dL / Bilirrubina > 20 mg/dL / Triglicérides > 1000 mg/dL, interferem no ensaio.
Medicamentos: consultar referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO
Sensibilidade: Limite de detecção: 17,61 µg/dL / Limite de quantificação: 39,77 µg/dL.
Especificidade Analítica: O produto determina especificamente capacidade de ligação de ferro na presença de outras substâncias interferentes na amostra, até as concentrações informadas acima.

Exatidão: O método foi comparado com método similar pela determinação de 40 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão y = 1,004x - 1,04 e coeficiente de correlação r=0,9945. Utilizando esta equação o erro sistemático total estimado de -0,293% para um nível de 150,00 µg/dL e 0,053.% para um nível de 300,00 µg/dL.
Precisão: Foi determinada utilizando amostras em 03 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtido:

Amostras (µg/dL)	Repetições	Precisão intra-corrída		Precisão total	
		SD (µg/dL)	%CV	SD (µg/dL)	%CV
105,5	80	1,16	1,1	3,25	3,1
173,8	80	1,16	0,7	4,45	2,6
336,2	80	2,14	0,6	4,32	1,3

%CV: Coeficiente de variação expresso em porcentagem; SD: Desvio Padrão

RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando não estiverem em uso.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.
- O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de partículas para a água antes do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que se atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

Capacidade Latente de Ligação de Ferro - CLLF	110 a 370 µg/dL
Capacidade Total de Ligação de Ferro - CTFP	250 a 450 µg/dL
Índice de Saturação da Transferrina - IST	15 a 55 %

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.
Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): µmol/L
CTLF (µg/dL) x 0,179 = CTFP (µmol/L)

MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 560 nm (525-575).
- Banho de água, termostatizado a 37 °C.
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Relógio ou Cronômetro.
- Tubos de ensaio.

ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO

- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.biotechnica.ind.br ou pelo telefone (35)-3214-4646.
- Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR
Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Biotécnica são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições especificadas. Os dados relativos ao Controle de Qualidade deste produto (lote impresso nas etiquetas dos frascos de reagentes) ou qualquer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Científica da Biotécnica Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo email sac@biotecnicatlda.com.br

AUTOMATIZAÇÃO
Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores. Os protocolos estão disponíveis em www.biotechnica.ind.br

ENGLISH
INTENDED USE
Kit for the determination of iron binding capacity in serum. In vitro diagnostic use.



STORAGE AND HANDLING

- Store at 2 to 8 °C.
- Protect from light.
- Stable until the kit expiration date that is printed on the label.
- Do not use reagents whose date has expired.

WORKING PRINCIPLE
The iron ions present in R1 saturate the available transferrin sites in the sample. The excess of unbound iron reacts with the chromogen ferrozine to form a colored complex, which exhibits a maximum absorption at 560 nm. The difference between the total amount of iron contained in R1 and the quantity determined for the sample corresponds to the Latent Iron Binding Capacity of the sample. The Total Iron Binding Capacity is the sum of the Latent Iron Binding Capacity and the Serum Iron.

SAMPLES – TYPE, COLLECTION, HANDLING, PREPARATION AND PRESERVATION
Sample Type: Serum.
Collection, handling and preparation: Perform the sample collection according to Good Clinical Laboratory Practice. The samples to be analyzed should be treated as potentially infectious material. Centrifuge and separate the serum within two hours after collection.
Preservation: The sample is stable for 6 months at - 20 °C.

PRODUCT DESCRIPTION

R 1	TRIS Buffer ≥ 100 mmol / L; ferric chloride ≥ 10 µmol / L; detergent; stabilizer; preservative.	
R 2	Tampão TRIS ≥ 10 mmol/L; Ácido Ascórbico ≥ 20 mmol/L; Ferrozine ≥ 2,0 mmol/L; estabilizante.	
CAL	Lyothesized human serum containing human transferrin, stabilizers and preservatives. Standard value printed on the bottle label. Traceable to NIST reference material SRM-937.	

STABILITY IN USE

- **R1 and R2:** After opening, the product in use is stable to the expiration date printed on the label, recommended storage conditions are followed (2 to 8 °C).
- **CAL:** After reconstitution, the calibrator is stable for 5 days if stored at 2 to 8 °C and 30 days at - 20 °C.
- Reagents should remain outside the specified temperature only for the time required to perform the tests.

TREATMENT AND HANDLING OF THE PRODUCT
A) REAGENT PREPARATION
R1 and R2: Ready-to-use reagents.
CAL: Freeze-dried. Reconstitute with 1.5 mL of purified water. Leave to stand for 30 minutes. Mix by gentle inversion avoiding foaming.

B) OPERATING INTERVAL
The operating range of the product is 39.8 µg / dL at 469 µg / dL.
For higher values, dilute the sample with 150 mM NaCl (0.9%), carry out a new dosage and multiply the result obtained by the dilution factor.

QUALITY CONTROL
The use of controls should be routine practice in the laboratory. It is suggested to use one control in the reference range or at the decision level and another control with value in another range of clinical significance. For the Internal Quality Control Laboratory it is recommended to use the control sera below:

Normal Control Serum- Quantinorm	REF	13.003.00
Serum Pathological Control - Quantialt		13.004.00

TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION
A) TEST PROCEDURE
1 - Pipette into test tube.

	Blank	Test	Calibrator
R1	0,75 mL	0,75 mL	0,75 mL
Sample	----	0,1 mL	----
CAL	----	----	0,1 mL
Purified Water	0,1 mL	----	----

2. Homogenize gently. Incubate for 5 minutes at 37 °C.
3. Measure the absorbance of the Blank, Test and Calibrator at 560nm (525-575), setting the zero with purified water. This will be the A1 absorbance.
4. Add:

	Blank	Test	Calibrator
R2	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL

5. Homogenize gently and incubate 5 minutes at 37 °C.
6. Measure the Absorbance of Blank, Test and Calibrator at 560nm (525-575). This will be the absorbance A2. The color is stable for 30 minutes.

B) CALCULATIONS
The A1 absorbances must be corrected to the final volume of the reaction, obtaining A1COR, according to the following equation:

$$A_{1COR} = A_1 \times 0,809$$

Determine the ΔA of the Blank, Test and CAL: A₂ - A_{1COR}.
For calculations use the absorbance difference (A₃) between CAL / Test and White:

A₃ CAL: ΔA White - ΔA CAL
A₃ Test: ΔA White - ΔA Test

Latent Iron Binding Capacity:

$$CLLF (\mu\text{g} / \text{dL}) = \frac{A_3 \text{ Test}}{A_3 \text{ CAL}} \times \text{CAL Concentration}$$

Example:
White:
A₁ = 0.003 A_{1COR} = 0.003 x 0.809 = 0.002
A₂ = 0.700 ΔA White = 0.700 - 0.002 = 0.698

CAL:
CAL concentration = 287 µg/dL
A₁ = 0,056 A_{1COR} = 0,056 x 0,809 = 0,045
A₂ = 0,645 ΔA CAL = 0,645 - 0,045 = 0,600
A₃ = 0,698 - 0,600 = 0,098

Test:
A₁ = 0,027 A_{1COR} = 0,027 x 0,809 = 0,022
A₂ = 0,658 ΔA Teste = 0,658 - 0,022 = 0,636
A₃ = 0,698 - 0,636 = 0,062

CLLF (µg/dL) = $\frac{0,062}{0,098} \times 287 = 182 \mu\text{g/dL}$

Total Iron Bonding Capacity:
CTLF ($\mu\text{g} / \text{dL}$) = Serum Iron + CLLF

Transferrin Saturation%:

$$\text{Transferrin Saturation (\%)} = \frac{\text{Serum Iron}}{\text{CTLF}} \times 100$$

C) INTERPRETATION

About 1 mg of iron is absorbed daily. Once in the mucosal cells, Fe²⁺ ions bind to transporters. Before passing into the plasma, these are oxidized by ceruloplasmin to Fe³⁺ and bind to apotransferrin. The apotransferrin-Fe³⁺ complex is called transferrin which carries the iron ions in the blood plasma. Approximately one third of the transferrin binding sites are occupied by Fe³⁺, so the additional amount of iron that can be bound is latent iron binding capacity (CLLF). The sum of serum iron with CLLF represents the total iron binding capacity (CTLF). CTLF varies in iron metabolism disorders. In iron deficiency anemia CTLF is elevated and transferrin saturation is low. Low serum iron concentrations associated with low CTLF may occur in cases of chronic anemia, malignant tumors or infections.

INTERFERING AND LIMITATIONS

Hemolysis, Jaundice and Lipemia: Hemoglobin > 150 mg / dL / Bilirubin > 20 mg / dL / Triglycerides > 1000 mg / dL, interfere with the assay.

Medications: see recommended literature reference (Young, 2000).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity: Limit of detection: 17.61 $\mu\text{g} / \text{dL}$ / Limit of quantification: 39.77 $\mu\text{g} / \text{dL}$.
Analytical Specificity: The product specifically determines iron binding capacity in the presence of other interfering substances in the sample up to the concentrations reported above.
Accuracy: The method was compared with a similar method by the determination of 40 samples in duplicate. The regression equation $y = 1.004x - 1.04$ and correlation coefficient $r = 0.9945$ was obtained. Using this equation the estimated total systematic error of -0.293% for a level of 150.00 $\mu\text{g} / \text{dL}$ and 0.053%, to a level of 300.00 $\mu\text{g} / \text{dL}$.
Accuracy: it was determined using samples at 03 decision levels, two runs in duplicate per day for 20 days, being obtained.

Samples ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	Repetitions	In-run Precision		Total Precision	
		SD ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	%CV	SD ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	%CV
105,5	80	1,16	1,1	3,25	3,1
173,8	80	1,16	0,7	4,45	2,6
336,2	80	2,14	0,6	4,32	1,3

% CV: Coefficient of variation expressed as a percentage; SD: Standard Deviation

RESIDUAL RISK, WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Use PPE according to Good Clinical Laboratory Practice.
- Do not mix reagents from different lots.
- Do not exchange reagent bottle caps to avoid cross-contamination.
- Do not use the reagent when it has a visual characteristic that is not in accordance with the product's MSDS requirements.
- Avoid leaving the reagents out of the specified storage conditions when they are not in use.
- Use specific glass pipettes and disposable tips for each sample, control, standard / calibrator and reagent.
- The water level of the water bath should be higher than that of the test tubes containing the reactions.
- The laboratory shall establish the chemical, microbiological and particulate requirements for water prior to use for each of its applications and shall define the specifications or types of water that meets them. Once the required purity has been defined, the purification system must be validated and it is important to ensure that the water obtained continues to meet the specifications by means of periodic checks.
- Proper cleaning and drying of the used material are fundamental factors for the stability of the reagents and obtaining correct results.

REFERENCE RANGES

Latent Iron Capacity - CLLF	110 to 370 $\mu\text{g}/\text{dL}$
Total Iron Capacity - CTF	250 to 450 $\mu\text{g}/\text{dL}$
Transferrin Saturation index - IST	15 to 55 %

These values are for guidance only and it is recommended that each laboratory establishes its own reference range.

Conversion to International System Unit (SI): $\mu\text{mol} / \text{L}$

CTLF ($\mu\text{g} / \text{dL}$) $\times 0,179 =$ CTLF ($\mu\text{mol} / \text{L}$)

MATERIALS REQUIRED TO CARRY OUT THE TEST

- Spectrophotometer or photometer for reading at 560 nm (525-575).
- Water bath, thermostated at 37 ° C.
- Glass and / or automatic pipettes.
- Clock or Stopwatch.
- Test tubes

ALERTS AND PRECAUTIONS REGARDING PRODUCT DISPOSAL

- Disposal, Safety and First Aid information are described in the Individual Product Safety Data Sheet (MSDS) for this product, available at www.biotechnica.ind.br or by telephone (35) -3214-4646.
- Dispose of leftover reactions in accordance with Good Clinical Laboratory Practice (BPLC) and Health Service Waste Management Program (PGRSS).

QUALITY ASSURANCE / CUSTOMER TECHNICAL SERVICE

Before being approved for use all BioTécnica reagents are tested in the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured up to the expiring date stated in the label of the external packaging, since it is stored and transported in the specified conditions. The quality control data concerning this product (batch printed on the labels of reagent bottles) or any technical doubt on handling this product or this procedure, contact us calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail: sac@biotechnicaltda.com.br

AUTOMATION

This product is compatible to the most types of biochemical automatic analysers. The applications are available at www.biotechnicaltda.ind.br

ESPAÑOL

FINALIDAD

Kit destinado a la determinación de la Capacidad de Fijación de Hierro en suero. Uso en diagnóstico *in vitro*.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conservar de 2 a 8 ° C.
- Mantener al abrigo de la luz.
- Estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los iones de hierro presentes en R1 saturan los sitios disponibles de la Transferrina presente en la muestra. El exceso de hierro no fijado, reacciona con el cromógeno ferrozina para formar un complejo colorido con máximo de absorción en 560 nm. La diferencia entre la cantidad total de hierro contenida en R1 y la cantidad determinada para la muestra corresponde a la capacidad latente de fijación de hierro. La capacidad total de fijación de hierro es la suma del hierro sérico y la capacidad latente de fijación de hierro.

MUESTRAS: TIPO, RECOLECCIÓN, MANIPULACIÓN, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN

Tipo de Muestra: Suero.

Recolección, manipulación y preparación: Realizar la recolección de las muestras de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio Clínico. Las muestras analizadas deben ser tratadas como material potencialmente infectantes.

Confiar y separar el suero dentro de las 2 horas siguientes a la extracción.

Conservación: La muestra se estable 6 meses en temperatura de -20°C.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

R 1	Buffer TRIS ≥ 100 mmol/L; cloruro férrico ≥ 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$; detergente; estabilizante; conservante.	
R 2	Buffer TRIS ≥ 10 mmol/L; ácido ascórbico ≥ 20 mmol/L; ferrozina $\geq 2,0$ mmol/L; estabilizante.	
CAL	Suero humano liofilizado que contiene transferrina humana, estabilizantes y conservantes. Valor impreso en el rótulo del frasco. Rastreable al material de referencia NIST SRM-937.	

ESTABILIDAD EN USO

- R1 y R2:** Después de abiertos los reactivos en uso son estables hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja, almacenados en las condiciones recomendadas (2 a 8°C).
- CAL:** Después de reconstituido, o calibrador es estable 5 días conservado en temperatura de 2 a 8 ° C y 30 días en temperatura de - 20 ° C.
- Los reactivos deben permanecer fuera de la temperatura especificada solamente el tiempo necesario para la realización de los ensayos.

INSTRUCCIONES PARA USO

A) PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

R1 y R2: Reactivos listos para uso.

CAL: Liofilizado. Reconstituir con 1,5 mL de agua purificada. Dejar en reposo 30 minutos. Homogenizar por inversión suave evitando la formación de espuma.

B) INTERVALO OPERACIONAL

El intervalo operacional del producto es de 39,8 $\mu\text{g}/\text{dL}$ a 469 $\mu\text{g}/\text{dL}$. Para valores superiores, diluir la muestra con NaCl 150 mM (0,9%), realizar nuevo ensayo y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

CONTROL DE CALIDAD

El uso de controles debe ser práctica rutinera en el laboratorio. Se sugiere usar un control en el intervalo de referencia o decisión y otro con valor de significado clínico. Para el Control Interno de Calidad del Laboratorio se recomienda el uso de los siguientes sueros:

Soro Controle Normal - Quantinorm	REF	13.003.00
Soro Controle Patológico - Quantial	REF	13.004.00

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO, CÁLCULOS E INTERPRETACIÓN

A) PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Muestra	Calibrador
R1	0,75 mL	0,75 mL	0,75 mL
Muestra	---	0,1 mL	---
CAL	---	---	0,1 mL
Agua purificada	0,1 mL	---	---

- Homogenizar suavemente. Incubar 5 minutos a 37 ° C.
- Leer la absorbancia del Blanco, Muestra y Calibrador en 560nm (525-575), llevando a cero el aparato con agua purificada. Esta será la absorbancia A₁.
- Adicionar:

	Blanco	Muestra	Calibrador
R2	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL

- Homogenizar suavemente. Incubar 5 minutos a 37 ° C.
- Leer la absorbancia del Blanco, Muestra y Calibrador en 560nm (525-575). Esta será la absorbancia A₂. El color se establece 30 minutos.

B) CÁLCULOS

Las absorbancias A₂ deben ser corregidas para el volumen final de reacción, obteniéndose A_{2COR}, de la siguiente manera:

$$A_{2COR} = A_2 \times 0,809$$

Determinar ΔA del Blanco, Muestra y CAL: $A_2 - A_{2COR}$.

Para los cálculos utilizar la diferencia de absorbancia (A₂) entre: CAL/Muestra y el Blanco:

A₁ CAL: ΔA Blanco - ΔA CAL

A₂ Teste: ΔA Blanco - ΔA Muestra

Capacidad Latente de Fijación de Hierro:

$$\text{CLLF } (\mu\text{g}/\text{dL}) = \frac{A_2 \text{ Muestra}}{A_1 \text{ CAL}} \times \text{Concentración del CAL}$$

Ejemplo:

Blanco:

$$A_1 = 0,003 \quad A_{1COR} = 0,003 \times 0,809 = 0,002$$
$$A_2 = 0,700 \quad \Delta A \text{ Blanco} = 0,700 - 0,002 = 0,698$$

CAL:

$$\text{Concentración del CAL} = 287 \mu\text{g}/\text{dL}$$
$$A_1 = 0,056 \quad A_{1COR} = 0,056 \times 0,809 = 0,045$$
$$A_2 = 0,645 \quad \Delta A \text{ CAL} = 0,645 - 0,045 = 0,600$$
$$A_3 = 0,698 - 0,600 = 0,098$$

Test:

$$A_1 = 0,027 \quad A_{1COR} = 0,027 \times 0,809 = 0,022$$
$$A_2 = 0,658 \quad \Delta A \text{ Muestra} = 0,658 - 0,022 = 0,636$$
$$A_3 = 0,698 - 0,636 = 0,062$$

$$\text{CLLF } (\mu\text{g}/\text{dL}) = \frac{0,062}{0,098} \times 287 = 182 \mu\text{g}/\text{dL}$$

Capacidad Total de Fijación de Hierro:

CTLF ($\mu\text{g}/\text{dL}$) = Hierro Sérico + CLLF

% Saturación de Transferrina:

$$\text{Saturación de Transferrina (\%)} = \frac{\text{Hierro Sérico}}{\text{CTLF}} \times 100$$

C) INTERPRETACIÓN

Cerca de 1 mg de hierro es absorbido diariamente. En las células mucosas los iones Fe²⁺ se unen a transportadores. Antes de pasar al plasma, son oxidados por la ceruloplasmina a Fe³⁺ y se unen a apotransferrina. El complejo apotransferrina-Fe³⁺ es llamado de transferrina, que realiza el transporte de los iones de hierro en el plasma sanguíneo. Dado que aproximadamente un tercio de los sitios de unión en la transferrina están ocupados por Fe³⁺, una cantidad adicional puede ser fijada, esta es la capacidad latente de fijación de hierro (CLLF). La suma del hierro sérico y la CLLF representa la capacidad total de fijación de hierro (CTLF). La CLLF varía en desórdenes del metabolismo de hierro. En anemias por deficiencia de hierro, la CTF aumenta y la saturación de transferrina disminuye. Bajas concentraciones de hierro en suero son asociadas con bajas CTF y pueden ocurrir en casos de anemia crónica, tumores malignos o infecciones.

INTERFERENTES O LIMITACIONES

Hemólisis, Ictericia e Lipemia: Hemoglobina > 150 mg/dL, Bilirubina > 20 mg/dL, Triglicéridos > 1000 mg/dL, interfieren en el ensayo.

Medicamentos: consultar la referencia recomendada (Young, 2000).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Sensibilidad: Límite de detección: 17,61 $\mu\text{g}/\text{dL}$ / Límite de cuantificación: 39,77 $\mu\text{g}/\text{dL}$.

Especificidad Analítica: El producto determina específicamente Capacidad de Fijación de Hierro ante la presencia de otras sustancias interferentes en la muestra, hasta las concentraciones indicadas anteriormente.

Exactitud: El método fue comparado con otro similar determinando 40 muestras en duplicado.

Fue obtenida la ecuación de regresión $y = 1,004x - 1,04$ con un coeficiente de correlación $r = 0,9945$. Utilizando esta ecuación, el error sistemático total es de -0,293% para un nivel de 150,00 $\mu\text{g}/\text{dL}$ y de 0,053% para un nivel de 300,00 $\mu\text{g}/\text{dL}$.

Precisión: Fue determinada utilizando muestras en 3 niveles de decisión, en dos determinaciones diarias en duplicado durante 20 días, con los siguientes resultados:

Muestras ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	Repeticiones	Precisión intra-corrida		Precisión total	
		SD ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	%CV	SD ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	%CV
105,5	80	1,16	1,1	3,25	3,1
173,8	80	1,16	0,7	4,45	2,6
336,2	80	2,14	0,6	4,32	1,3

%CV: Coeficiente de variación expresado en porcentaje; SD: Desviación Estándar

RIESGOS RESIDUALES, CUIDADOS Y PRECAUCIONES

- Utilizar los EPI's de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- No cambiar las tapas de los frascos de los reactivos, a fin de evitar contaminación cruzada.
- No usar el reactivo cuando presente característica visual en desacuerdo con lo especificado en la FISPQ del producto.
- Evitar dejar los reactivos fuera de las condiciones de almacenamiento especificadas, cuando los mismos no estén en uso.
- Usar pipetas de vidrio y punteras desechables específicas para cada muestra, control, Standard/calibrador y reactivo.
- El nivel de agua del baño maría debe ser superior al de los tubos de ensayo que contienen las reacciones.
- Cada laboratorio debe establecer requisitos químicos, microbiológicos y de partículas para el agua antes de su uso en cada una sus aplicaciones y definir las especificaciones o tipos de agua que atiendan sus requisitos. Una vez que la pureza requerida fue establecida, el sistema de purificación debe ser validado y es importante para asegurar que el agua resultante continúa atendiendo las especificaciones implementar controles periódicos.
- La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

INTERVALO DE REFERENCIA

Capacidad Latente de Fijación de Hierro - CLLF	110 a 370 $\mu\text{g}/\text{dL}$
Capacidad Total de Fijación de Hierro - CTF	250 a 450 $\mu\text{g}/\text{dL}$
Índice de Saturación de Transferrina - IST	15 a 55 %

Estos valores son únicamente para orientación siendo recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

Conversión para Unidad del Sistema Internacional (SI): $\mu\text{mol}/\text{L}$

CTLF ($\mu\text{g}/\text{dL}$) $\times 0,179 =$ CTLF ($\mu\text{mol}/\text{L}$)

MATERIAL NECESARIO PARA REALIZAR EL ENSAYO

- Spectrofotómetro o fotómetro para lectura en 560 nm (525 - 575).
- Baño de agua, termostatazo a 37 ° C.
- Pipetas de vidrio y/o automáticas.
- Reloj o Cronómetro.
- Tubos de ensayo.

ALERTAS Y PRECAUCIONES PARA EL DESCARTE DEL PRODUCTO

- Las informaciones de Descarte, Seguridad y Primeros Socorros están descritas en la Ficha Individual de Seguridad de Productos Químicos (FISPQ) de este producto, disponible en www.biotechnica.ind.br o por el teléfono +55 (35)-3214-4646.
- Desear las sobras de las reacciones de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico (BPLC) y Programa de Gestión de Residuos de Servicio de Salud (PGRSS).

GARANTÍA DE CALIDAD / SAC - SERVICIO DE ASISTENCIA AL CLIENTE

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos Biotécnica son ensayados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de vencimiento mencionada en el envase, desde que almacenados y transportados en las condiciones especificadas. Los datos relativos al Control de Calidad de este producto (lote impreso en las etiquetas de los frascos de reactivos) o cualquier duda en la utilización de este kit, entrar en contacto con la Asesoría Científica de la Biotécnica Ltda, a través del teléfono +55 35 3214 4646 o por el e mail sac@biotechnicaltda.com.br

AUTOMACIÓN

Este procedimiento es automatizado en la mayoría de los analizadores.

Los protocolos están disponibles en www.biotechnica.ind.br.

APRESENTAÇÕES / PRESENTATIONS / PRESENTACIONES

1	R1 R2 CAL	2 x 50 mL 2 x 15 mL 2 x 1,5 mL		R1/R2: 136 - 0,95 mL CAL: 30 - 0,1 mL
---	-----------------	--------------------------------------	--	---

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES/REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSENDELFT, O. et al. Determination of Serum Iron, Total Iron-Binding Capacity and Percent Transferrin Saturation; Approved Standart. NCCLS. V. 18 p. 40, 1998.
- BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. Tietz: Fundamentos de Quimica Clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 836 p.
- KOJIMA, N.; BATES, G.W. The Formation of Fe³⁺-Transferrin-CO₂⁻² via the Binding and Oxidation of Fe²⁺. *The Journal of Biological Chemistry*, v.256, n.23, 12034-12039, 1981.
- MURTAGH, L.J. et al. Unsatured Iron Binding Capacity and Transferrin Saturation are Equally Reliable in Detection of HFE Hemochromatosis. *AIG*, v.97, n.8, 2093-2099.
- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. *Clin. Chem.* v.27 p.493-501, 1981.
- YOUNG, D.S. *Effects of drugs on clinical laboratory tests* - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACCC Press, 2000.

TABELA DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS / TABLE OF INTERNATIONAL SYMBOLS / TABLA DE SÍMBOLOS INTERNACIONALES			
	Consultar instruções de Uso Consultinstructions for use Consultar Instrucciones de Uso		Não descartar diretamente no ambiente Dispose properly Desechar adecuadamente
REF	Código Code Código		Conteúdo suficiente para <n> testes Contentinsufficient for <n>tests Contenido suficiente para <n>ensayos
LOT	Número de lote Batchcode Denominação de lote		Límite de temperatura Temperaturelimitation Temperatura límite
IVD	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i> For <i>in vitro</i> diagnostic medical device Para uso en diagnóstico <i>in vitro</i>		Data limite de utilização (último dia do mês) Use by (last day of the month) Estable hasta (ultimo dia del mes)
	Risco biológico Biological risk Riesgo biológico		Nocivo / Irritante Harmful / Irritant Nocivo / Irritante
R <n>	Reagente e seu número/abreviação Reagent and its número/abbreviation Reactivo y su número/abreviación	CAL	Calibrador Calibrator Calibrador