

Order information:

Catalog No.		Contents			
H8901	Hit I/ 917 (ILab* / AU*)	R1	6 x	20 ml	R2 6 x 7 ml
H8903	Hit 917 (AU*)	R1	4 x	60 ml	R2 4 x 20 ml
AU8901	AU	R1	6 x	20 ml	R2 6 x 7 ml

(*) Kit contains only reagent barcode for Hitachi system.

System information:

Hitachi 911/917: ACN 216
For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Immunoturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of transferrin in human serum and plasma.

Summary:

Transferrin is a glykoprotein with a molecular weight of 79570 daltons. It consists of a polypeptide strand with two N-glycosidically linked oligosaccharide chains and exists in numerous isoforms. The rate of synthesis in the liver can be altered in accordance with the body's iron requirements and iron reserves. Transferrin is the iron transport protein in serum. In cases of iron deficiency, the degree of transferrin saturation appears to be an extremely sensitive indicator of functional iron depletion. The ferritin levels are depressed when there is a deficiency of storage iron. In sideropenia, an iron deficiency can be excluded if the serum transferrin concentration is low, as in inflammations or - less commonly - in cases of ascorbic acid deficiency. In screening for hereditary hemochromatosis, transferrin saturation provides a better indication of the homozygous genotype than does ferritin. The treatment of anemia with erythropoietin in patients with renal failure is only effective when sufficient depot iron is present. The best monitoring procedure is to determine transferrin saturation during therapy. Transferrin saturation in conjunction with ferritin gives a conclusive prediction of the exclusion of iron overloading in patients with chronic liver disease. A variety of methods are available for determining transferrin including radial immunodiffusion, nephelometry and turbidimetry. This transferrin assay is based on the immunological agglutination principle.

Test principle:

Immunoturbidimetric assay
• sample and addition of R1 (buffer)
• addition of R2 (anti-transferrin antibody/buffer) and start of reaction
Anti-transferrin antibodies react with the antigen in the sample to form an antigen/antibody complex. Following agglutination, this is measured turbidimetrically. Addition of PEG allows the reaction to progress rapidly to the end point, increases sensitivity and reduces the risk of samples containing excess antigen producing false-negative results.

Reagent concentration:

R1:	
TRIS/HCl buffer* pH 7.8	100mmol/l
NaCl	150mmol/l
PEG	4.5 %
Preservative	
R2:	
Anti-human transferrin-antibodies (goat): dependent on titer;	
TRIS/HCl-buffer* pH 7.8	80 mmol/l
NaCl	150 mmol/l
Preservative	
*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane	

Preparation and Stability

R1: Ready for use
R2: Ready for use
Unopened kit components: Up to the expiration date at 2-8°C
Onboard Stability at 2-8°C: R1 90 days
R2 90 days

Specimen

Collect serum using standard sampling tubes
Heparin-Plasma
Stability: 8 days at +20°C to +25°C
8 days at +4°C to +8°C
6 months at -20°C
Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.
The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 60 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 60 mg/dl).
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1000 (approximate haemoglobin concentration: 1000 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 600 (approximate triglyceride concentration: 1200 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglyceride concentration.
Rheumatoid factors < 500 IU/ml do not interfere.
A high-dose-hook-effect may occur at transferrin concentrations of above 2000 mg/dl. The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

- Working solutions as described above
- Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual procedure:		
Wavelength:	600 nm	
Temperature:	37°C	
Cuvette:	1 cm	
Zero adjustment:	against blank	
Sample/Calibrator	Blank	Sample/Calibrator
R1	750 µl	10 µl 750 µl
Mix and incubate 5 min. at 37°C and read A ₁ . Then add:		
R2	200 µl	200 µl
Mix and incubate 5 min. at 37°C and read A ₂		
Calculation:		
$\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ sample or calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ blank}]$		
The concentration of transferrin in patient sera has to be calculated from ΔA using mathematic function as logit/log or can be read from a graph using values of 6 levels of standards in the concentration range of 0 to 160 mg/dl transferrin. For zero value is recommended to use saline solution (0.9%)		
TIBC is the non-specific binding of iron ions to various serum proteins, not only transferrin. For this reason, the conversion factor from transferrin to TIBC is not based on the molecular weight of transferrin, but has been experimentally determined.		
The following conversion possibilities exist between the transferrin and the total iron-binding capacity: 1 mg transferrin cor. 1.41 µg Fe mg transferrin/dl x 1.27 = µg TIBC/dl mg transferrin/dl x 0.2275 = µmol TIBC/l		

Measuring/reportable range:

10-500 mg/dl (0.1-5.0 g/l)

At higher concentrations, determine via rerun function or manually dilute the sample with 0,9% NaCl solution, (e.g. 1:1). Multiply the result by the appropriate factor (e.g. Factor 2).

Reference values:

IFCC/CRM 470*
200-360 mg/dl (2.0-3.6 g/l)

*Reference values according to CRM 470 Protein Standardization

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the transferrin results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 15 mg/dl (0.15 g/l)
The detection limit represents the lowest measurable transferrin concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol (n = 21). The following results were obtained:

Sample	Between day		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	124	2.15	1.72
Sample 2	253	4.42	1.75
Sample 3	372	5.75	1.54

Method comparison:

A comparison of the Turbitex[®] TRANS (y) with a commercial obtainable assay (x) assay (x) gave with 40 samples the following result.

$$y = 1.017 + 0.969 x; \quad r = 0.988$$

Quality control:

Protein Control Level 1 3 x 1 ml #7661
Protein Control Level 2 3 x 1 ml #7662

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardisation: The transferrin method has been standardized against the reference preparation CRM 470.

• Manual procedure:

S1: 0.9% NaCl
S2-S6: Bio Cal P 3 x 1 ml #1407
 Bio Cal P Set 5 x 1 ml #1475

• Roche/Hitachi 911/917:

S1: 0.9% NaCl
S2-S6: Bio Cal P 3 x 1 ml #1407

Factors for calculating the concentrations of standards for the 6-point calibration curve using the lot-assigned value of the Bio Cal P:

S2: 0.125 S5: 1.000
S3: 0.250 S6: 2.000
S4: 0.500

Calibration frequency

Full calibration is recommended:

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literatur:

1. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
2. Buffone GJ, Lewis SA, Josefsohn M et al. Chemical and immuno-chemical measurement of total iron-binding capacity compared. Clin Chem 1978; 24:1788-1791
3. Consensus values of the Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, the Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie and the Verband der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
4. Gottschalk R. Evaluation of total iron binding capacity and transferrin determination under several clinical conditions. Publication in preparation.
5. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
6. Haupt H, Baudner S. Behring Inst Mitt 1990; 86: 16-19
7. Heidelberger M, Kendall FE. J Exp Med 1935;62:697
8. Kreuzer HJH. An immunological turbidimetric method for serum transferrin determination. J Clin Chem Biochem 1976;14:401-406
9. Lievens M, Borque de Larrea L, Rus A et al. Determination of transferrin without sample predilution by a turbidimetric assay on Boehringer Mannheim/Hitachi analysis systems. Lab med 1994;18:83-90
10. Lizana J Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
11. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. Immunochemical Quantitation of antigens by single radial Immunodiffusion. Immunochemistry 1965;2:235-243
12. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
13. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
14. Wick M, Pinggera W, Lehmann P eds.. Iron Metabolism, Diagnosis and Therapy of Anemias, 3th Wien/New York: Springer Verlag 1996

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
H8901 Hit 1 / 917 (ILab* / AU*)	R1 6 x 20 ml R2 6 x 7 ml
H8903 Hit 917 (AU*)	R1 4 x 60 ml R2 4 x 20 ml
AU8901 AU	R1 6 x 20 ml R2 6 x 7 ml

(*) Kit enthält nur Reagenzien Barcodes für Hitachi Systeme.

Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 216
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von Transferrin in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

Transferrin ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 79570, bestehend aus einem Polypeptidstrang mit zwei N-glykosidisch gebundenen Oligosaccharidketten in zahlreichen Isoformen. Die Synthese in der Leber kann je nach Eisenbedarf und Eisenreserven kompensatorisch gesteigert werden. Transferrin ist das Eisentransportprotein im Serum. Bei Eisenmangel scheint die Transferrinsättigung ein höchst empfindlicher Indikator auf eine funktionelle Eisenverarmung zu sein. Ferritin ist bei Speichereisenmangel erniedrigt. Bei Hyposiderämie kann Eisenmangel ausgeschlossen werden, wenn im Serum eine erniedrigte Transferrinkonzentration vorliegt, wie bei Entzündungen oder seltener, bei Ascorbinsäuremangel. Beim Screening auf eine hereditäre Hämochromatose gibt die Transferrinsättigung eine bessere Voraussage auf den homozygoten Genotyp als Ferritin. Die Behandlung einer Anämie mit Erythropoietin bei Patienten mit Niereninsuffizienz ist nur bei einem ausreichenden Eisendepot wirksam, die beste Kontrolle erfolgt durch Transferrinsättigungsbestimmungen während der Behandlung. Zusammen mit Ferritin gibt die Transferrinsättigung eine genaue Voraussage für den Ausschluss einer Eisenüberladung bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen. Zur Transferrinbestimmung stehen verschiedene Methoden zur Verfügung wie die Immunodiffusion, die Nephelometrie und die Turbidimetrie. Der vorliegende Test beruht auf dem Prinzip des immunologischen Agglutinationstests.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest
• Probe und Zugabe von R1 (Puffer)
• Zugabe von R2 (Anti-Transferrin-Antikörper/Puffer) und Start der Reaktion.

Anti-Transferrin-Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird. Der Zusatz von PEG ermöglicht einen schnellen Endpunkt, erhöht die Empfindlichkeit und vermindert das Risiko, bei Proben mit Antigenüberschuss falsch negative Werte zu messen.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:
TRIS/HCl Puffer* pH 7,8 100 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
PEG 4,5 %
Konservierungsmittel

R2:
Anti-Human Transferrin-Antikörper (Ziege): abhängig vom Titer;
TRIS/HCl-Puffer* pH 7,8 80 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
Konservierungsmittel

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig
Bei +2°C - 8°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.
Onboard Stabilität bei 2-8°C: R1 90 Tage
R2 90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen
Heparin-Plasma
Haltbarkeit: 8 Tage bei +20°C bis +25°C
8 Tage bei +4°C bis +8°C
6 Monate bei - 20°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 60 (ca. 60 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1000 (ca. 1000 mg/dl Hämoglobin).
Lipämie: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 600 (ca. 1200 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.
Rheumafaktoren < 500 IU/ml stören nicht.
Bei Transferrinkonzentrationen über 2000 mg/dl kann der High-Dose-Hook-Effekt auftreten. Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben
- Zusätzlich benötigte Materialien*
- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Manuelle Testdurchführung:		
Wellenlänge:	600 nm	
Reaktionstemperatur:	37°C	
Schichtdicke:	1 cm	
Messung:	gegen Reagenzienleerwert (RLW)	
	RLW	Probe/ Kalibrator
Probe/ Kalibrator	---	10 µl
R1	750 µl	750 µl
Mischen, 5 min. bei 37°C inkubieren und E ₁ ablesen. Dann dazugeben:		
R2	200 µl	200 µl
Mischen, 5 min. bei 37°C inkubieren und E ₂ ablesen		
Berechnung:		
$\Delta E = [(E_2 - E_1) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_2 - E_1) \text{ RLW}]$		
Die Konzentration von Transferrin in Patientenserum sollte aus dem ΔE der Probe mit Hilfe eines mathematischen Modells wie logit/log berechnet oder aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Messergebnissen von 5 Standards für einen Kalibrationsbereich von 0 bis 160 mg/dl Transferrin. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen.		
Als TEBK (Totale Eisenbindungskapazität) wird die nicht spezifische Bindung von Eisen-Ionen an verschiedene Serumproteine, nicht nur Transferrin, bezeichnet. Daher beruht der Umrechnungsfaktor von Transferrin auf TEBK nicht auf dem Molekulargewicht des Transferrins, sondern wurde experimentell ermittelt.		
Zwischen dem Transferrin-Gehalt der Probe und der Totalen Eisenbindungskapazität bestehen folgenden Umrechnungsmöglichkeiten: 1 mg Transferrin entspricht 1,41 µg Fe mg Transferrin/dl x 1,27 = µg TEBK/dl mg Transferrin/dl x 0,2275 = µmol TEBK/l		

Messbereich:

10 - 500 mg/dl bzw. 0,1 - 5,0 g/l
Bei höheren Konzentrationen erfolgt die Bestimmung der Proben via Rerun-Funktion oder die Proben werden mit NaCl-Lösung (0,9%) verdünnt (z.B. 1 : 1). Das Ergebnis ist mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor zu multiplizieren (z.B. Faktor 2).

Referenzbereich:

IFCC/CRM 470*
200-360 mg/dl (2.0-3.6 g/l)

*Referenzwerte gem. CRM 470 Protein-Standardisierung

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Transferrinergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 15 mg/dl bzw. 0,15 g/l
Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Transferrinkonzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Humanproben und Kontrollen gemäß einem internen Protokoll (n = 21) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Humanserum	124	2,15	1,72
Protein Control Level 1	253	4,42	1,75
Protein Control Level 2	372	5,75	1,54

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Turbitex TRANS (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 40 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,017 + 0,969 x; \quad r = 0,988$$

Qualitätskontrolle:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Standardisierung: die Methode wurde an einer Referenzpräparation CRM 470 abgeglichen.

• Manuelle Testdurchführung:

S1:	0,9% NaCl		
S2-S6:	Bio Cal P	3 x 1 ml	#1407
	Bio Cal P Set	5 x 1 ml	#1475

• Roche/Hitachi 911/917:

S1:	0,9% NaCl		
S2-S6:	Bio Cal P	3 x 1 ml	#1407

Faktoren für die Berechnung der Standardkonzentrationen der Sechspunkt-Kalibrationskurve aus dem chargenspezifischen Sollwert des Bio Cal P:

S2: 0.125	S5: 1.000
S3: 0.250	S6: 2.000
S4: 0.500	

Kalibrationshäufigkeit

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
2. Buffone GJ, Lewis SA, Josefsohn M et al. Chemical and immunochemical measurement if total iron-binding capacity compared. Clin Chem 1978; 24:1788-1791
3. Gottschalk R. Evaluation of total iron binding capacity and transferrin determination under several clinical conditions. Publication in preparation.
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
5. Haupt H, Baudner S. Behring Inst Mitt 1990; 86: 16-19
6. Heidelberger M, Kendall FE. J Exp Med 1935;62:697
7. Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriums-medizin, der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und des Verbandes der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
8. Kreuzer HJH. An immunological turbidimetric method for serum transferrin determination. J Clin Chem Biochem 1976;14:401-406
9. Lievens M, Borque de Larrea L, Rus A et al. Determination of transferrin without sample predilution by a turbidimetric assay on Boehringer Mannheim/Hitachi analysis systems. Lab med 1994;18:83-90
10. Lizana J Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
11. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. Immunochemical Quantitation of antigens by single radial Immunodiffusion. Immunochemistry1965;2:235-243
12. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
13. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
14. Wick M, Pinggera W, Lehmann P eds.. Iron Metabolism, Diagnosis and Therapy of Anemias, 3 Auflage Wien/New York: Springer Verlag 1996