

CAPACIDADE LIGADORA DE FERRO

REF K009

INSTRUÇÕES DE USO



FINALIDADE

Método para a determinação da Capacidade Ligadora de Ferro. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Colorimétrico

O Ferro é transportado no sangue por uma Betaglobulina específica denominada Transferrina. Cada molécula de Transferrina é capaz de transportar 2 átomos de íons Fe⁺³ e em condições fisiológicas a Transferrina encontra-se em torno de 30% saturada. Para determinar a Capacidade Ligadora de Ferro (CLF) à molécula da Transferrina, incuba-se o soro em teste com um Padrão de Ferro. Este Ferro irá saturar o sítios disponíveis da Transferrina e o excesso de Ferro (não ligado) será dosado através do complexo corado com Ferrozine, indicando a CLF.

REAGENTES

Número 1 - Tampão - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Tampão Tris 2,5 mmol/L, Hidroxilamina 300 mmol/L e surfactante.

Número 2 - Reagente de Cor - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Ferrozine 30 mmol/L e estabilizador.

Número 3 - Padrão - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Ferro 500 mcg/dL.

APRESENTAÇÃO

Reagente	Volume
Nº 1	50 mL
Nº 2	3,2 mL
Nº 3	20 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria a 37°C, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.

4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

5- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.

6- Hemólise, mesmo discreta, interfere na dosagem.

7- Com frequência, os valores da absorbância inicial (em amostra com sobrenadante límpido) são iguais a zero. Nestes casos, usar apenas o valor de A₂ nos cálculos.

8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

10- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

11- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise. O analito é estável 7 dias entre 2 e 8°C.

Em dosagens para controle terapêutico as amostras devem ser colhidas sempre no mesmo horário.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

A vidraria utilizada deve estar escrupulosamente limpa e isenta de Ferro.

Marcar 3 tubos de ensaio com as letras B (Branco), P (Padrão), A (Amostra) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Reagente Nº 1	1,0 mL	--	1,5 mL
Água destilada	1,5 mL	2,0 mL	--
Amostra	--	--	500 µL
Reagente Nº 3	--	500 µL	500 µL

Homogeneizar suavemente e incubar em banho-maria a 37°C por 10 minutos. Determinar a absorbância da Amostra em 560 nm (540 - 580 nm), acertando o zero com o Branco. Esta será a absorbância A₁.

Em seguida adicionar:

	Branco	Padrão	Amostra
Reagente Nº 2	1 gota	1 gota	1 gota

Homogeneizar suavemente e incubar em banho-maria a 37°C por 10 minutos. Determinar as absorbâncias da Amostra e do Padrão em 560 nm (540 - 580 nm), acertando o zero com o Branco. A absorbância da amostra será A₂.

CÁLCULOS

Os cálculos abaixo baseiam-se também, na metodologia descrita no kit Ferro Sérico Bioclin.

CLLF - Capacidade Latente de Ligação do Ferro

CTLF - Capacidade Total de Ligação do Ferro

IST - Índice de Saturação da Transferrina

$$CLLF \text{ (mcg/dL)} = 500 - \left(\frac{(A_2 - A_1)}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 500 \right)$$

$$CTLF \text{ (mcg/dL)} = CLLF + \text{Ferro Sérico}$$

$$IST \text{ (\%)} = \frac{\text{Ferro Sérico}}{\text{Capacidade Total (mcg/dL)}} \times 100$$

Os resultados serão expressos em mcg/dL.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Uma agitação insuficiente dos reagentes poderá resultar em valores falsamente elevados. A utilização de água contaminada por Ferro aumentará a intensidade da cor do Branco, levando a resultados falsamente baixos.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em mcg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação da Capacidade de Ligação do Ferro em populações sadias do sexo masculino e feminino.
Capacidade Latente (CLLF)..... 140 – 280 mcg/dL
Capacidade Ligadora Total (CTLF)..... 250 – 410 mcg/dL
Saturação de Transferrina (IST)..... 20 – 50%

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO
CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA
O kit Capacidade Ligadora de Ferro foi comparado com outro método para dosagem de Capacidade Ligadora de Ferro, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 1,003X - 0,671$, e o coeficiente de correlação 0,999. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão
REPETIBILIDADE
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mcg/dL)	144,35	202,55	297,20
Desvio Padrão (mcg/dL)	0,75	0,76	0,77
Coeficiente de Variação (%)	0,52	0,37	0,26

REPRODUTIBILIDADE
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mcg/dL)	143,67	202,73	297,12
Desvio Padrão (mcg/dL)	0,83	0,20	0,08
Coeficiente de Variação (%)	0,57	0,10	0,03

Linearidade
A reação é linear até valores de Capacidade Ligadora residual igual a 450 mcg/dL. Para valores maiores, diluir o soro com água destilada ou deionizada e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
O transporte do Ferro no plasma é feito por uma Transferrina específica (Betaglobulina), que pode ser dosada indiretamente através da quantidade de Ferro que

ela pode fixar. Esta quantidade denomina-se Capacidade Total Ligadora do Ferro (CTLF).
Para o diagnóstico de sobrecarga ou deficiência de Ferro, os exames devem incluir um perfil hematológico completo, doseamento do ferro, da CTLF e cálculo do Índice de Saturação da Transferrina (IST).
As causas mais frequentes do aumento da CTLF são: anemia por deficiência de ferro, gravidez, uso de anticoncepcionais orais e estados de hipóxia.
Esta capacidade está diminuída nas doenças inflamatórias crônicas, doenças malignas, nefroses, intoxicação com ferro e talassemia maior.
O IST está aumentado na intoxicação com ferro, nefroses, talassemia maior, deficiência de piridoxina, anemia hemolítica e sideroblástica, e diminuído nas deficiências de ferro, doenças malignas, infecções crônicas, gravidez e período menstrual.

NÚMERO DE TESTES
20 Testes / 500 µL de Amostra
40 Testes / 250 µL de Amostra

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1 - PETERS T., et coll.: J. Lab and Clin Med. 48:280, 1956.
2 - HENRY, R. J., Cannon. D. C. and Winkelman, J. W., eds.: Clinical Chemistry: Principles and Technics, Haper and Row Publishers, 1974.
3 - ZAK, B.: Clin Chim. Acta 3: 328, 1958.
4 - BRITTENHAM, G.: Clin Chim. Acta. 91: 203, 1979.
5 - TONKS, D. B.: Chim. Acta 2: 393, 1983.

GARANTIA DE QUALIDADE
Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** 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 adequadas.

 **QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

 **OBELIS S.A.**
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR
Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Capacidade Ligadora de Ferro na ANVISA: 10269360096

Revisão: Abril/2013

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

NÚMERO DE CATÁLOGO

NÚMERO DO LOTE

DATA DE FABRICAÇÃO

DATA DE VALIDADE (último dia do mês)

LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)

O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO

PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

REPRESENTANTE EUROPEU AUTORIZADO

PROTEGER DA LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROLE

CONTROLE POSITIVO

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA

CAPACIDAD DE FIJACIÓN DE HIERRO

REF K009



INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para la determinación de la Capacidad de Fijación del Hierro. Test colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Colorimétrico

El Hierro es transportado en el sangre por la Betaglobulina específica denominada Transferrina. Cada molécula de Transferrina es capaz de transportar 2 átomos de Fe⁺³ y en condiciones fisiológicas se encontra 30% saturada. Para determinar la Capacidad de Fijación del Hierro (CLF) a la molécula de Transferrina, se incuba el suero con un Patrón de Hierro. Este hierro satura los sitios disponibles de la Transferrina y el exceso (no fijo) es dosificado a través del complejo colorado con Hierrozina, indicando la CLF.

REACTIVOS

Número 1 - Tampón - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Tampón Tris 2,5 mmol/L, Hidroxilamina 300 mmol/L y surfactante.

Número 2 - Reactivo de Color - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Hierrozina 30 mmol/L y estabilizador.

Número 3 - Patrón - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Hierro 500 mcg/dL.

PRESENTACIÓN

Reactivo	Volumen
Nº 1	50 mL
Nº 2	3,2 mL
Nº 3	20 mL

EQUIPAMIENTO E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, baño maria a 37°C, cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte deberá ser de 15 a 30°C. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad.

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.

3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente y exenta de agentes contaminantes.

4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos, agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.

5- El nivel de agua en el baño maria debe ser superior al nivel de los reactivos en los tubos de ensayo.

6- Hemólisis, aun discreta, interfiere en la dosificación.

7- Con frecuencia, los valores de la absorbancia inicial (en la muestra con sobrenadante límpido) son iguales a cero. En estos casos, usar solamente el valor de A₂ en los cálculos.

8- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

9- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

10- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

11- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero obtenido libre de hemólisis. El analito es estable por 7 días a temperaturas entre 2 y 8°C. En dosificación para control terapéutico las muestras deben ser colectadas siempre en el mismo horario.

DESCRIPCION DEL PROCESO

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

La vidreria utilizada debe estar escrupulosamente limpia y exenta de Hierro.

Marcar 3 tubos de ensayo con las letras B (Blanco), P (Patrón), M (Muestra) y proceder como sigue:

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo Nº 1	1,0 mL	--	1,5 mL
Agua destilada	1,5 mL	2,0 mL	--
Muestra	--	--	500 µL
Reactivo Nº 3	--	500 µL	500 µL

Homogenizar suavemente e incubar en baño maria a 37°C por 10 minutos. Determinar la absorbancia de la Muestra en 560 nm (540 - 580 mn), ajustando el cero con el Blanco. Esta será la absorbancia A₁. Em seguida adicionar:

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo Nº 2	1 gota	1 gota	1 gota

Homogenizar suavemente e incubar en baño maria a 37°C por 10 minutos. Determinar las absorbancias de la Muestra y del Patrón en 560 nm (540 - 580 nm), ajustando el cero con el Blanco. La absorbancia de la muestra será A₂.

CÁLCULOS

Los cálculos se basan, en la metodología descrita en el kit Hierro Sérico Bioclin.

CLLF - Capacidad Latente de Fijación del Hierro

CTLF - Capacidad Total de Fijación del Hierro

IST - Indice de Saturación de la Transferrina

$$CLLF \text{ (mcg/dL)} = 500 - \left(\frac{(A_2 - A_1)}{\text{Absorbancia del Patrón}} \times 500 \right)$$

$$CTLF \text{ (mcg/dL)} = CLLF + \text{Hierro sérico}$$

$$IST \text{ (\%)} = \frac{\text{Hierro sérico}}{\text{Capacidade Total (mcg/dL)}} \times 100$$

Los resultados se expresan en mcg/dL.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Una agitación insuficiente de los reactivos podrá resultar en valores falsamente elevados. La utilización de agua contaminada por Hierro aumentará la intensidad de color del Blanco, llevando a resultados falsamente bajos.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia en mcg/dL, para el presente método, fueron obtenidos por la determinación de la Capacidad de Fijación del Hierro en poblaciones sanas de sexo masculino y femenino.

Capacidad Latente (CLLF)..... 140 - 280 mcg/dL

Capacidad de Fijación Total (CTLF)..... 250 - 410 mcg/dL

Saturación de Transferrina (IST)..... 20 - 50%

Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio deberá crear su rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida.

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA

El kit Capacidad de Fijación de Hierro fue comparado con otro método para dosificación de Capacidad de Fijación de Hierro comercialmente disponible. Fueron realizadas 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue $Y = 1,003X - 0,671$, y el coeficiente de correlación 0,999. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mcg/dL)	144,35	202,55	297,20
Desvío Patrón (mcg/dL)	0,75	0,76	0,77
Coefficiente de Variación (%)	0,52	0,37	0,26

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mcg/dL)	143,67	202,73	297,12
Desvío Patrón (mcg/dL)	0,83	0,20	0,08
Coefficiente de Variación (%)	0,57	0,10	0,03

Linealidad

La reacción es lineal hasta valores de Capacidad de Fijación residual igual a 450 mcg/dL. Para valores mayores, diluir el suero con agua destilada o deionizada y multiplicar el resultado pelo factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

El transporte de Hierro en el plasma es realizado por una Transferrina específica (Betaglobulina), que puede ser dosificada indiretamente por la cantidad del Hierro que puede fijar. Esta cantidad se denomina Capacidad Total de Fijación del Hierro (CTLF).

Para el diagnóstico de sobrecarga o deficiencia de Hierro, los exámenes deben incluir un perfil hematológico completo, dosificación de hierro, de la CTLF y cálculo del Índice de Saturación de la Transferrina (IST).

Las causas mas freqüentes del aumento de la CTLF son: anemia por deficiencia de hierro, embarazo, uso de anticonceptivos orales y estados de hipóxia.

Esta capacidad esta disminuída en las enfermedades inflamatórias crónicas, enfermedades malignas, nefrosis, intoxicación con hierro y talasemia mayor.

El IST está aumentado en la intoxicación con Hierro, nefrosis, talasemia mayor, deficiencia de piridoxina, anemia hemolítica y sideroblástica, y disminuido en las deficiencias de hierro, enfermedades malignas, infecciones crónicas, embarazo y período menstrual.

NÚMERO DE PRUEBAS

20 Pruebas / 500 µL de Muestra

40 Pruebas / 250 µL de Muestra

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - PETERS T., et coll.: J. Lab and Clin Med. 48:280,1956.

2 - HENRY, R. J., Cannon. D. C. and Winkleman, J. W., eds.: Clinical Chemistry: Principles and Technics, Haper and Row Publishers, 1974.

3 - ZAK, B.: Clin Chim. Acta 3: 328, 1958.

4 - BRITTENHAM, G.: Clin Chim. Acta. 91: 203, 1979.

5 - TONKS, D. B.: Chim. Acta 2: 393, 1983.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son probados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está asegurada hasta la fecha de validad mencionada en la caja de presentación, si son almacenados y transportados en condiciones adecuadas.

 **QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Tel.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455

E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

 **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53

1030 Brussels, Belgium

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel.: 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro de Kit Capacidade de Fijación de Hierro en la ANVISA: 10269360096

Revisión: Abril/2013

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

NÚMERO DEL CATÁLOGO

NÚMERO DE LOTE

FECHA DE FABRICACIÓN

ESTABLE HASTA
(último día del mes)

TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO

PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR

ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL POSITIVO

CONTROL NEGATIVO

RIESGO BIOLÓGICO

INFLAMABLE

CORROSIVO

TÓXICO

MARCADO CE

NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

IRON BINDING CAPACITY

REF K009

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Method for determination of Iron-Binding Capacity. Colorimetric test, only for *in vitro* diagnostic.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Colorimetric

The iron is transported in blood by a specific Betaglobulin denominated Trasferrin. Each Transferrin is capable of transporting 2 atoms of ion Fe⁺³ and in physiologic conditions the transferring is found approximately 30% saturated. To determinate the Iron-Binding Capacity (IBC) the transferrin molecule, incubate the testing serum with the Iron Standard. This iron will saturate the available sites of Transferring and the excess of Iron (not bind) will be dosed through a Ferrozine colored complex, presenting the IBC.

REAGENTS

Number 1 - Buffer - Store between 15 and 30°C. Contains: Tris Buffer 2,5 mmol/L, Hydroxilamine 300 mmol/L and surfactant.

Number 2 - Color Reagent - Store between 15 and 30°C. Contains: Ferrozine 30 mmol/L and stabilizer.

Number 3 - Standard - Store between 15 and 30°C. Contains: Iron 500 mcg/dL.

PRESENTATION

Reagent	Volume
Nº 1	50 mL
Nº 2	3,2 mL
Nº 3	20 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometers or colorimeter, water-bath at 37°C, watch or stopwatch, pipettes, test tubes, Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin. They can be found at markets specialized in laboratories of clinical analysis.

TRANSPORTAION AND STORAGE CONDITIONS

The storage and transport temperature should be between 15 and 30°C. Protect from light and avoid moisture.

SPECIAL CARE

- 1- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
- 3- Water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 4- Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.

5- The water level in water-bath must by higher than the reagent level in test tubes.

6- Hemolysis, even discrete, interferes in the dosage.

7- Frequently, the absorbance initial values (in sample with translucid supernatant) are equal to zero. In this case, use only the value of A₂, in calculations.

8- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

9- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Safety Data Sheet Safety of Chemicals) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Advisory Service Customer) of Quibasa.

10- Do not use the product in case of damaged packaging.

11- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLE

Serum obtained free of hemolysis. The analytical is stable for 7 days between 2 and 8°C.

In dosages for therapeutic control the samples must be collected always in the same time.

PROCESS DESCRIPTION

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits.

The glassware must be meticulously clean and absent of the Iron presence.

Mark 3 tess tubes with the letters B (Blank), P (Standard), A (Sample) and proceed as follows:

	Blank	Standard	Sample
Reagent Nº 1	1,0 mL	--	1,5 mL
Distilled Water	1,5 mL	2,0 mL	--
Sample	--	--	500 µL
Reagent Nº 3	--	500 µL	500 µL

Smoothly homogenize and incubate in water-bath at 37°C for 10 minutes. Determinate the absorbance of the Sample in 560 nm (540 - 580 nm), hitting the zero with the Blank. This will be the absorbance A₁.

And then add:

	Blank	Standard	Sample
Reagent Nº 2	1 drop	1 drop	1 drop

Smoothly homogenize and incubate in water-bath at 37°C for 10 minutes. Determinate the absorbance of the sample in 560 nm (540 - 580 nm), hitting the zero with the Blank. This will be the absorbance A₂.

CALCULATIONS

The calculations below are based, also, in the methodology described in Iron Serum Bioclin kit.

CLLF - Latent Iron-Binding Capacity

CTLF - Total Iron-Binding Capacity

IST - Transferrin Saturation Index

CLLF (mcg/dL) = 500 - $\left(\frac{(A_2 - A_1)}{\text{Standard Absorbance}} \times 500 \right)$

CTLF (mcg/dL) = CLLF + Iron Serum

IST (%) = $\frac{\text{Iron Serum}}{\text{Total Capacity (mcg/dL)}} \times 100$

The results are expressed in mcg/dL.

PROCEDURE LIMITATIONS

An insufficient shaking of the reagent can result in wrongly elevated values. The use of iron contaminated water will increase the intensity of Blank's color, leading to wrongly low results.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

REFERENCE VALUES

The reference values in mcg/dL, for this method were obtained through the determination of the Iron-Binding Capacity in healthy populations of male and female. Latent Capacity (CLLF).....140 - 280 mcg/dL Total Binding Capacity (CTLF).....250 - 410 mcg/dL Transferrin Saturation (IST).....20 - 50%

These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE
QUALITY CONTROL

Accuracy
COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGY SPECIFICITY
The Iron Binding Capacity kit was compared with other methods for measurement of Iron-Binding Capacity commercially available. 07 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 1,003X - 0,671$, and the correlation coefficient 0,999. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision
REPEATABILITY
The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (mcg/dL)	144,35	202,55	297,20
Standard Deviation (mcg/dL)	0,75	0,76	0,77
Coefficient of Variation (%)	0,52	0,37	0,26

REPRODUCIBILITY
The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (mcg/dL)	143,67	202,73	297,12
Standard Deviation (mcg/dL)	0,83	0,20	0,08
Coefficient of Variation (%)	0,57	0,10	0,03

Linearity
The reaction is linear until the residual values of the Binding Capacity are equal to 450 mcg/dL. For higher values, dilute the serum with distilled or deionized water and multiply the result by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE
The iron transport in plasma is made by a specific Transferrin (Betaglobulin), that can be dosed indirectly through the Iron quantity that it can bind. This quantity is denominated the Total Iron-Binding Capacity. (CTLF). For the overload diagnosis or Iron deficiency, the exams must insert a complete hematological profile, dosing the iron, of CTLF and calculating the Transferrin Saturation Index (IST).
The most frequent causes for the CTLF increase are: iron deficiency anemia, pregnancy, oral anti-contraceptive use and hypoxia state.

The capacity is reduced in the chronic inflammatory diseases major, malignant diseases, nephrosis, iron intoxication and thalassemia major.
The IST is increasing the intoxication with iron, nephrosis, thalassemia, pyridoxine, hemolytic anemia and sideroblastic, and reducing the iron deficiency, malignant diseases, chronic infestations, pregnancy and menstrual cycle.

NUMBER OF TESTS
20 Tests / 500 µL of Sample
40 Tests / 250 µL of Sample

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES
1 - PETERS T., et coll.: J. Lab and Clin Med. 48:280,1956.
2 - HENRY, R. J., Cannon. D. C. and Winkleman, J. W., eds.: Clinical Chemistry: Principles and Technics, Haper and Row Publishers, 1974.
3 - ZAK, B.: Clin Chim. Acta 3: 328, 1958.
4 - BRITTENHAM, G.: Clin Chim. Acta. 91: 203, 1979.
5 - TONKS, D. B.: Chim. Acta 2: 393, 1983.

QUALITY ASSURANCE
Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.

 **QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

 **OBELIS S.A.**
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE
Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for the Iron Binding Capacity kit: 10269360096

Review: April/2013

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MANUFACTURED BY
	BATCH CODE		CONTROL
	DATE OF MANUFACTURE		POSITIVE CONTROL
	USED BY (last day of month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMITATION (store at)		BIOLOGICAL RISK
	CONTAINS SUFFICIENT FOR <N> TESTS		INFLAMMABLE
	CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE		POISON
	EUROPEAN AUTHORIZED REPRESENTATIVE		CE MARK
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED