



DCM039-10  
Ed. 01/2016

# FERRITIN ELISA

per analisi di routine

Determinazione immunoenzimatica diretta della Ferritina nel siero o plasma umano

IVD



LOT

Vedi etichetta esterna



Σ = 96 test

REF DKO039

## DESTINAZIONE D'USO

Metodo immunoenzimatico colorimetrico per la determinazione quantitativa della concentrazione di Ferritina nel siero o plasma umano.

Il kit Ferritin ELISA è destinato al solo uso di laboratorio.

## 1. SIGNIFICATO CLINICO

La Ferritina è una proteina globulare presente principalmente nel fegato, che può immagazzinare circa 2250 ioni di ferro (Fe<sup>3+</sup>). La molecola di ferritina (apoferritin) è composta da unità secondarie pesanti e leggere, che circondano un nucleo cristallino che contiene l'ossido ed il fosfato di ferro. La Ferritina è sintetizzata nel fegato, nella milza e in numerosi altri tessuti, le concentrazioni maggiori sono presenti nel fegato, nella milza, nel midollo osseo e nel mucosa intestinale.

I livelli di ferritina hanno una correlazione diretta con la quantità totale di ferro immagazzinata nel corpo. Se il livello di ferritina è alto, il ferro in eccesso è espulso. Se il livello di ferritina è basso, vi è un rischio di carenza di ferro che potrebbe condurre all'anemia.

Nella regolazione dell'anemia, la misurazione della ferritina sierica è la prova di laboratorio più sensibile per valutare l'anemia da mancanza del ferro. In opposizione, livelli di ferritina sierica normali o aumentati sono connessi all'anemia cronica.

Livelli elevati di ferritina nel siero sono stati osservati nelle affezioni epatiche acute e croniche e nella leucemia e linfoma di Hodgkin. Livelli elevati di ferritina nel siero sono stati associati anche con un rischio elevato di infarto miocardico negli uomini.

Ferritin inoltre è usato come indicatore per i disordini dovuti al sovraccarico di ferro, quali l'emocromatosi il livello di ferritina può essere elevato.

La Ferritina è un reattivo di fase-acuta, è spesso elevata nel corso della malattia.

Il ferro libero è tossico alle cellule ed il corpo ha un insieme elaborato dei meccanismi protettivi per legare il ferro in vari scompartimenti dei tessuti. All'interno delle cellule, il ferro è immagazzinato complessato a proteine come la ferritina o l'emosiderina. L'apoferritina lega il ferro ferroso libero e lo immagazzina come ferrico.

In condizioni normali il livello di ferritina nel siero è in equilibrio con i depositi di ferro; quindi, il livello di

ferritina sierica è la prova di laboratorio più efficace per valutare i depositi del ferro.

## 2. PRINCIPIO DEL METODO

Il kit Diametra Ferritin ELISA è basato sulla cattura simultanea della Ferritina umana da parte di due anticorpi monoclonali, uno immobilizzato nella micropiastra, l'altro coniugato con la perossidasi di rafano (HRP).

Dopo un determinato periodo di incubazione, la separazione libero-legato si ottiene mediante semplice lavaggio della fase solida.

Successivamente, l'enzima HRP presente nella frazione legata catalizza la reazione tra il Substrato (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ed il TMB Substrate, sviluppando una colorazione blu che vira al giallo dopo aggiunta dello Stop solution (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

L'intensità del colore sviluppato è proporzionale alla concentrazione di Ferritina presente nel campione.

La concentrazione della Ferritina nel campione è calcolata in base ad una curva di calibrazione.

## 3. REATTIVI, MATERIALI E STRUMENTAZIONE

### 3.1. Reattivi e materiali forniti nel kit

#### 1. Calibrators (6 flaconi)

CAL0 (3 mL)

REF DCE002/3906-0

CAL1 (1 mL)

REF DCE002/3907-0

CAL2 (1 mL)

REF DCE002/3908-0

CAL3 (1 mL)

REF DCE002/3909-0

CAL4 (1 mL)

REF DCE002/3910-0

CAL5 (1 mL)

REF DCE002/3911-0

#### 2. Control (1 vial, 1 mL)

La concentrazione del Controllo è indicata sul Certificato di Analisi

REF DCE045/3903-0

#### 3. Conjugate (1 flacone, 12 mL)

Anticorpo anti Ferritina coniugato a Perossidasi di rafano (HRP)

REF DCE002/3902-0

#### 4. Coated Microplate (1 micropiastra breakable)

Anticorpo anti Ferritina assorbito sulla micropiastra

REF DCE002/3903-0

#### 5. TMB Substrate (1 flacone, 15 mL)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB (0,26 g/L) (evitare il contatto con la pelle)

REF DCE004-0

6. Stop Solution (1 flacone, 15 mL)  
 Acido Solforico 0,15 mol/L (*evitare il contatto con la pelle*) **REF DCE005-0**
7. 10X Conc. Wash Solution (1 flacone, 50 mL)  
 Tampone fosfato 0,2M, pH 7.4 **REF DCE054-0**

### 3.2. Reattivi necessari non forniti nel kit

Acqua distillata.

### 3.3. Materiale e strumentazione ausiliare

Dispensatori automatici.

Letto per micropiastre (450 nm, 620-630 nm)

### Note

*Conservare tutti i reattivi a 2-8°C, al riparo dalla luce.*

*Aprire la busta del Reattivo 4 (Coated Microplate) solo dopo averla riportata a temperatura ambiente e chiuderla subito dopo il prelievo delle strip da utilizzare; una volta aperta è stabile fino alla data di scadenza del kit.*

*Evitare di staccare l'etichetta adesiva dalle strip che non vengono utilizzate nella seduta analitica.*

### 4. AVVERTENZE

- Questo test kit è per uso in vitro, da eseguire da parte di personale esperto. Non per uso interno o esterno su esseri Umani o Animali.
- Usare i previsti dispositivi di protezione individuale mentre si lavora con i reagenti forniti.
- Seguire le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP) per la manipolazione di prodotti derivati da sangue.
- Tutti i reattivi di origine umana usati nella preparazione dei reagenti sono stati testati e sono risultati negativi per la presenza di anticorpi anti-HIV 1&2, per HbsAg e per anticorpi anti-HCV. Tuttavia nessun test offre la certezza completa dell'assenza di HIV, HBV, HCV o di altri agenti infettivi. Pertanto, i Calibratori ed i Controlli devono essere maneggiati come materiali potenzialmente infettivi.
- Alcuni reagenti contengono piccole quantità di Proclin 300<sup>R</sup> come conservante. Evitare il contatto con la pelle e le mucose.
- Il TMB Substrato contiene un irritante, che può essere dannoso se inalato, ingerito o assorbito attraverso la cute. Per prevenire lesioni, evitare l'inalazione, l'ingestione o il contatto con la cute e con gli occhi.
- La Stop Solution è costituita da una soluzione di acido solforico diluito. L'acido solforico è velenoso e corrosivo e può essere tossico se ingerito. Per prevenire possibili ustioni chimiche, evitare il contatto con la cute e con gli occhi.
- Evitare l'esposizione del reagente TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a luce solare diretta, metalli o ossidanti. Non congelare la soluzione.
- Questo metodo consente di determinare concentrazioni di Ferritina da 5 ng/mL a 1000 ng/mL.

### 5. PRECAUZIONI

- Si prega di attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi indicata in questo protocollo. I risultati presentati qui sono stati ottenuti usando specifici reagenti elencati in queste Istruzioni per l'Uso.
- Tutti i reattivi devono essere conservati a temperatura controllata di 2-8°C nei loro contenitori originali. Eventuali eccezioni sono chiaramente indicate. I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza se conservati e trattati seguendo le istruzioni fornite.
- Prima dell'uso lasciare tutti i componenti dei kit e i campioni a temperatura ambiente (22-28°C) e mescolare accuratamente.
- Non scambiare componenti dei kit di lotti diversi. Devono essere osservate le date di scadenza riportate sulle etichette della scatola e di tutte le fiale. Non utilizzare componenti oltre la data di scadenza.
- Qualora si utilizzi strumentazione automatica, è responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il kit sia stato opportunamente validato.
- Un lavaggio incompleto o non accurato dei pozzetti può causare una scarsa precisione e/o un'elevato background. Per migliorare le prestazioni del kit su strumentazione automatica, si consiglia di aumentare il numero di lavaggi.
- Per la riproducibilità dei risultati, è importante che il tempo di reazione di ogni pozzetto sia lo stesso. Per evitare il time shifting durante la dispensazione degli reagenti, il tempo di dispensazione dei pozzetti non dovrebbe estendersi oltre i 10 minuti. Se si protrae oltre, si raccomanda di seguire lo stesso ordine di dispensazione. Se si utilizza più di una piastra, si raccomanda di ripetere la curva di calibrazione in ogni piastra.
- L'aggiunta del TMB Substrato dà inizio ad una reazione cinetica, la quale termina con l'aggiunta della Stop Solution. L'aggiunta del TMB Substrato e della Stop Solution deve avvenire nella stessa sequenza per evitare tempi di reazione differenti.
- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori clinici testando controlli e/o pool di sieri.
- Osservare la massima precisione nella ricostituzione e dispensazione dei reagenti.
- Non usare campioni microbiologicamente contaminati, altamente lipemici o emolizzati.
- I lettori di micropiastre leggono l'assorbanza verticalmente. Non toccare il fondo dei pozzetti.

### 6. PROCEDIMENTO

#### 6.1. Preparazione dei Calibratori (C<sub>0</sub>...C<sub>5</sub>)

I Calibratori sono pronti all'uso, sono calibrati contro il WHO 1<sup>st</sup> IS Ferritin Human Liver 80/602 ed hanno le seguenti concentrazioni:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>
ng/mL	0	5	20	100	400	1000

Per campioni con concentrazione superiore a 1000 ng/mL diluire il campione con C<sub>0</sub>.

Una volta aperti, i Calibratori sono stabili 6 mesi a 2-8°C.

### 6.2. Preparazione della Wash Solution

Prima dell'uso, diluire il contenuto di ogni fiala di "10X Conc. Wash Solution" con acqua distillata fino al volume di 500 mL. Per preparare volumi minori rispettare il rapporto di diluizione di 1:10. La soluzione di lavaggio diluita è stabile a 2-8°C per almeno 30 giorni.

Nella wash solution concentrata è possibile osservare la presenza di cristalli; in tal caso agitare a temperatura ambiente fino a completa dissoluzione dei cristalli; per una maggiore precisione diluire tutto il flacone della soluzione di lavaggio concentrata a 500 mL, avendo cura di trasferire anche i cristalli, poi agitare fino a completa dissoluzione dei cristalli.

### 6.3. Preparazione del campione

La determinazione della Ferritina si effettua su siero o plasma umano. Il campione può essere conservato a 2-8°C per un breve periodo (massimo 5 giorni). Per periodi più lunghi, conservare il campione a -20°C. Evitare cicli di congelamento e scongelamento.

Il Controllo è pronto all'uso.

### 6.4. Procedimento

- **Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (22-28°C) per almeno 30 minuti.** Al termine del dosaggio riporre immediatamente tutti i reagenti a 2-8°C: evitare lunghi periodi a temperatura ambiente.
- Le strisce di pozzetti non utilizzate devono essere rimesse immediatamente nella busta richiudibile contenente il materiale essiccante e conservate a 2-8°C.
- Per evitare potenziali contaminazioni microbiche e/o chimiche non rimettere i reagenti inutilizzati nei flaconi originali.
- Al fine di aumentare l'accuratezza dei risultati del test è necessario operare in doppio, allestendo due pozzetti per ogni punto della curva di calibrazione (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), due per ogni Controllo, due per ogni Campione ed uno per il Bianco.

Reagente	Calibratore	Campione /Controllo	Bianco
Campione /Controllo		20 µL	
Calibratore C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	20 µL		
Conjugate	100 µL	100 µL	

Incubare 1 h a temperatura ambiente (22-28°C). Allontanare la miscela di reazione. Lavare i pozzetti 3 volte con 0.3 mL di wash solution diluita.

**Nota importante:** ad ogni step di lavaggio, agitare delicatamente la piastra per 5 secondi e successivamente rimuovere l'eccesso di soluzione di lavaggio sbattendo delicatamente la micropiastra capovolta su fogli di carta assorbente.

**Lavaggi automatici:** se si utilizza strumentazione automatica effettuare almeno 5 lavaggi.

TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Incubare 10 minuti a temperatura ambiente (22-28°C) al riparo dalla luce.

Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Agitare delicatamente la micropiastra. Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro una lunghezza d'onda di riferimento di 620-630 nm oppure contro il Bianco entro 5 minuti.

## 7. CONTROLLO QUALITA'

Ogni laboratorio dovrebbe analizzare i campioni nella gamma dei livelli elevati, normali e bassi di Ferritina per il controllo delle prestazioni dell'analisi. Questi campioni dovrebbero essere trattati come ignoti ed i valori determinati in ogni test effettuato. Le tabelle di controllo qualità dovrebbero essere effettuate per seguire le prestazioni dei reagenti forniti. Metodi statistici adeguati dovrebbero essere impiegati per accertare il trend. Il laboratorio dovrebbe fissare i limiti di accettabilità di prestazioni dell'analisi. Altri parametri che dovrebbero essere controllati includono le intercette di 80, 50 e 20% della curva di calibrazione per valutare la riproducibilità. In più, la capacità di assorbimento massima dovrebbe essere costante con l'esperienza precedente. La deviazione significativa dalle prestazioni stabilite può indicare il cambiamento inosservato negli stati o nella degradazione sperimentali dei reagenti del kit. Reagenti freschi dovrebbero essere usati per determinare il motivo delle variazioni.

## 8. RISULTATI

### 8.1. Estinzione Media

Calcolare l'estinzione media (Em) di ciascun punto della curva di calibrazione (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>) e di ogni campione.

### 8.2. Curva di calibrazione

Tracciare sul grafico delle assorbanze i valori calcolati delle estinzioni medie (Em) di ciascuno Calibratore (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>) in funzione delle concentrazioni. Tracciare la miglior curva passante per i punti Calibratori (es: Cubic Spline o Four Parameter Logistic).

### 8.3. Calcolo dei risultati

Interpolare, dal grafico, i valori di assorbanza relativi a ciascun campione e leggerne la corrispondente concentrazione in ng/mL.

## 9. VALORI DI RIFERIMENTO

I valori serici di Ferritina sono compresi nei seguenti intervalli:

		Media (ng/mL)	Range (ng/mL)
Donne	età fertile	53	6 - 180
	post-menopausa	105	8 – 350
Uomini		175	20 – 400

È importante tenere presente che la determinazione di un range di valori attesi in un dato metodo per una popolazione "normale" è dipendente da molteplici fattori, quali la specificità e sensibilità del metodo in uso, e la popolazione in esame. Perciò ogni laboratorio dovrebbe considerare i range indicati dal Fabbricante come un'indicazione generale e produrre range di valori attesi propri basati sulla popolazione indigena dove il laboratorio risiede.

## 10. PARAMETRI CARATTERISTICI

### 10.1. Precisione

#### 10.1.1. Intra-Assay

La variabilità all'interno dello stesso kit è stata determinata replicando (15x) il dosaggio di tre differenti sieri di controllo. La variabilità intra-assay è 7,5%.

#### 10.1.2. Inter-Assay

La variabilità tra kit differenti è stata determinata replicando (16x) il dosaggio di tre differenti sieri di controllo con kit appartenenti a lotti diversi. La variabilità inter-assay è 6,1%.

### 10.2. Specificità

L'anticorpo impiegato presenta le seguenti reazioni crociate, calcolate in base al rapporto in massa:

Liver Human Iso-Ferritin	100%
Splean Human Iso-Ferritin	80%
Hearth Human Iso-Ferritin	12%

### 10.3. Accuratezza

La prova di recupero condotta su campione arricchito con 12.5 – 25 – 50 – 100 – 200 ng/mL di Ferritina, ha dato un valore medio ( $\pm$ SD) di 98,66%  $\pm$  2,90%.

La prova di diluizione effettuata su 3 campioni diluiti fino a 8 volte ha dato un valore medio ( $\pm$ SD) di 102,11%  $\pm$  5,32%.

### 10.4. Sensibilità

La concentrazione minima di Ferritina misurabile che può essere distinta dal Calibratore 0 è 0,04 ng/mL con un limite di confidenza del 95%.

### 10.5. Correlazione con il dosaggio RIA

Il kit Ferritin ELISA Diametra è stato comparato con un kit disponibile in commercio. Sono stati testati i campioni di siero di 22 donne e 32 uomini.

La curva di regressione è:

$$(\text{Ferritin Diametra}) = 1,11 * (\text{Ferritin Diasorin}) - 10,46$$
$$r^2 = 0,972$$

### 10.6. Effetto "Hook"

In questo metodo non è stato osservato effetto Hook fino a 50000 ng/mL.

## 11. DISPOSIZIONI PER LO SMALTIMENTO

I reagenti devono essere smaltiti in accordo con le leggi locali.

## BIBLIOGRAFIA

- Walter G.O., et al J. Clin. Path . 29 770 - 772 (1973)
- Watanabe, N. et al Clin. Chem., 25/1 80 – 82 (1979)
- Van Oost, S.A. et al Clin. Chem 28/12, 2429 – 2433 (1982)
- Ronald H, et al Clin. Chem 29/6, 1109 - 1113 (1983)

Ed. 01/2016

DCM039-10

**DiaMetra S.r.l. Headquater:** Via Calabria 15,  
20090 SEGRATE (MI) Italy

Tel. +39-02-2139184

Fax +39-02-2133354

**Manufactory:** Via Pozzuolo 14,  
06038 SPELLO (PG) Italy

Tel. +39-0742-24851

Fax +39-0742-316197

E-mail: [info@diametra.com](mailto:info@diametra.com)



DCM039-10  
Ed. 01/2016

# FERRITIN ELISA

for routine analysis

Direct immunoenzymatic determination of Ferritin in human serum or plasma

IVD



LOT

See external label



Σ = 96 tests

REF DKO039

## INTENDED USE

Immunoenzymatic colorimetric method for quantitative determination of Ferritin concentration in human serum or plasma.

Ferritin ELISA kit is intended for laboratory use only.

## 1. CLINICAL SIGNIFICANCE

Ferritin is a globular protein found mainly in the liver, which can store about 2'250 iron ( $Fe^{3+}$ ) ions. The ferritin molecule consists of a protein shell (apoferritin) composed of heavy and light subunits, which surrounds a crystalline core containing iron oxide and phosphate.

Ferritin is synthesized in the liver, spleen and numerous other body tissues, with major concentrations found in the liver, spleen, bone marrow, and intestinal mucosa

The ferritin levels measured have a direct correlation with the total amount of iron stored in the body. If ferritin is high there is iron in excess, which would be excreted in the stool. If ferritin is low there is a risk for lack in iron, which sooner or later could lead to anaemia.

In the setting of anaemia, serum ferritin is the most sensitive lab test for iron deficiency anaemia. In contrast, serum ferritin levels are normal or increased in anemia associated with chronic disease. Elevated serum ferritin levels have been observed in acute and chronic liver disease and lymphoid malignancy (leukemia and Hodgkin lymphoma). High serum ferritin levels have also been associated with an elevated risk for myocardial infarction in men. Ferritin is also used as a marker for iron overload disorders, such as haemochromatosis in which the ferritin level may be abnormally raised.

Ferritin is an acute-phase reactant, it is often elevated in the course of disease.

Free iron is toxic to cells, and the body has an elaborate set of protective mechanisms to bind iron in various tissue compartments. Within cells, iron is stored complexed to protein as ferritin or hemosiderin. Apoferritin binds to free ferrous iron and stores it in the ferric state. Under steady state conditions, the serum ferritin level correlates with total body iron stores; thus, the serum ferritin level is the most convenient laboratory test to estimate iron stores.

## 2. PRINCIPLE

Diametra Ferritin ELISA test is based on simultaneous binding of human Ferritin to two monoclonal antibodies, one immobilized on microwell plates and the other conjugated with horseradish peroxidase (HRP).

After incubation the bound/free separation is performed by a simple solid-phase washing.

Then the enzyme HRP in the bound-fraction reacts with the Substrate ( $H_2O_2$ ) and the TMB Substrate and develops a blu color that changes into yellow when the Stop Solution ( $H_2SO_4$ ) is added.

The colour intensity is proportional to the Ferritin concentration in the sample.

The Ferritin concentration in the sample is calculated based on a standard curve.

## 3. REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

### 3.1. Reagents and materials supplied in the kit

#### 1. Calibrators (6 vials)

CAL0 (3 mL)	REF DCE002/3906-0
CAL1 (1 mL)	REF DCE002/3907-0
CAL2 (1 mL)	REF DCE002/3908-0
CAL3 (1 mL)	REF DCE002/3909-0
CAL4 (1 mL)	REF DCE002/3910-0
CAL5 (1 mL)	REF DCE002/3911-0

#### 2. Control (1 vial, 1 mL)

Control concentration is indicated on the Certificate of Analysis

REF DCE045/3903-0

#### 3. Conjugate (1 vial, 12 mL)

Anti Ferritin antibody conjugated with Horseradish peroxidase (HRP)

REF DCE002/3902-0

#### 4. Coated Microplate (1 breakable microplate)

Anti Ferritin antibody adsorbed on microplate

REF DCE002/3903-0

#### 5. TMB Substrate (1 vial, 15 mL)

$H_2O_2$ -TMB 0.26 g/L (avoid any skin contact)

REF DCE004-0

#### 6. Stop Solution (1 vial, 15 mL)

Sulphuric acid 0.15 mol/L (avoid any skin contact)

REF DCE005-0

#### 7. 10X Conc. Wash Solution (1 vial, 50 mL)

Phosphate buffer 0.2M, pH 7.4

REF DCE054-0

### 3.2. Reagents necessary not supplied

Distilled water.

### 3.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser.

Microplates reader (450 nm, 620-630 nm)

#### Note

Store all reagents between 2-8°C in the dark.

Open the bag of reagent 4 (Coated Microplate) only when it is at room temperature and close it immediately after use; once opened, it is stable until the expiry date of the kit.

Do not remove the adhesive sheets on the strips unutilised.

## 4. WARNINGS

- This kit is intended for in vitro use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
- All human source material used in the preparation of the reagents has been tested and found negative for antibody to HIV 1&2, HbsAg, and HCV. No test method however can offer complete assurance that HIV, HBV, HCV or other infectious agents are absent. Therefore, Calibrators and Controls should be handled in the same manner as potentially infectious material.
- Some reagents contain small amounts of Proclin 300<sup>R</sup> as preservative. Avoid the contact with skin or mucosa.
- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.
- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous and corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to directed sunlight, metals or oxidants. Do not freeze the solution.
- This method allows the determination of Ferritin from 5 to 1000 ng/mL.

## 5. PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction For Use.
- All reagents should be stored refrigerated at 2-8°C in their original container. Any exceptions are clearly indicated. The reagents are stable until the expiry date when stored and handled as indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22-28°C) and mix well prior to use.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vials labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.

- If you use automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately tested.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of reagents.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.

## 6. PROCEDURE

### 6.1. Preparation of the Calibrators (C<sub>0</sub>...C<sub>5</sub>)

The Calibrators are ready to use, are calibrated against the WHO 1<sup>st</sup> IS Ferritin 80/602 and have the following concentrations:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>
ng/mL	0	5	20	100	400	1000

For sample with concentration over 1000 ng/mL dilute the sample with C<sub>0</sub>.

Once opened, the Calibrators are stable 6 months at 2-8°C.

### 6.2. Preparation of Wash Solution

Dilute the content of each vial of the "10X Conc. Wash Solution" with distilled water to a final volume of 500 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:10 dilution ratio. The diluted wash solution is stable for 30 days at 2-8°C.

In concentrated wash solution is possible to observe the presence of crystals; in this case mix at room temperature until the complete dissolution of crystals; for greater accuracy, dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500 mL, taking care to transfer completely the crystals, then mix until crystals are completely dissolved.

### 6.3. Preparation of the Sample

Ferritin determination should be done in human serum or plasma. Specimen can be stored at 2-8°C for at short time (max five days). For longer storage the specimen should be frozen at -20°C. Avoid repeated freezing and thawing.

The Control is ready to use.

### 6.4. Procedure

- **Allow all reagents to reach room temperature (22-28°C) for at least 30 minutes.** At the end of the assay, store immediately the reagents at 2-8°C: avoid long exposure to room temperature.
- Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2-8°C.
- To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
- As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the calibration curve (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), two for each Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Calibrator	Sample/Control	Blank
Sample/Control		20 µL	
Calibrator C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	20 µL		
Conjugate	100 µL	100 µL	
Incubate for 1 hour at room temperature (22-28°C). Remove the content from each well. Wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution. <b>Important note:</b> during each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel. <b>Automatic washer:</b> if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.			
TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate for 10 minutes at room temperature (22-28°C) in the dark.			
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
Shake the microplate gently. Read the absorbance (E) at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against Blank within 5 minutes.			

## 7. QUALITY CONTROL

Each laboratory should assay controls at normal, high and low levels range of Ferritin for monitoring assay performance. These controls should be treated as unknowns and values determined in every test procedure performed. Quality control charts should be maintained to follow the performance of the supplied reagents. Pertinent statistical methods should be employed to ascertain trends. The individual laboratory should set acceptable assay performance limits. Other parameters that should be monitored include the 80, 50 and 20% intercepts of the calibration curve for run-to-run reproducibility. In addition, maximum absorbance should be consistent with past experience. Significant deviation from established performance can indicate unnoticed change in experimental conditions or degradation of kit reagents. Fresh reagents should be used to determine the reason for the variations.

## 8. RESULTS

### 8.1. Mean Absorbance

Calculate the mean of the absorbencies (E<sub>m</sub>) corresponding to the single points to the calibration curve (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>) and of each sample.

### 8.2. Calibration curve

Plot the values of absorbance (E<sub>m</sub>) of the Calibrators (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>) against concentration. Draw the best-fit curve through the plotted points. (es: Cubic Spline or Four Parameter Logistic).

### 8.3. Calculation of Results

Interpolate the values of the samples on the calibration curve to obtain the corresponding values of the concentrations expressed in ng/mL.

## 9. REFERENCE VALUES

The serum values are comprised in the following intervals:

		Mean (ng/mL)	Range (ng/mL)
<b>Women</b>	Premenopausal	53	6 – 180
	Post-menopausal	105	8 – 350
<b>Men</b>		175	20 – 400

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a “normal” population in a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation. Therefore each laboratory should consider the range given by the Manufacturer as a general indication and produce their own range of expected values based on the indigenous population where the laboratory works.

**10.1. Precision***10.1.1. Intra Assay*

Within run variation was determined by replicate (15x) the measurements of three different control sera in one assay. The within assay variability is 7.5%.

*10.1.2. Inter Assay*

Between run variations was determined by replicate (16x) the measurements of three different control sera in different lots. The between assay variability is 6.1%.

**10.2. Specificity**

The cross reaction of the antibody calculated on a weight/weight basis are shown in the table:

Liver Human Iso-Ferritin	100%
Spleen Human Iso-Ferritin	80%
Hearth Human Iso-Ferritin	12%

**10.3. Accuracy**

The recovery of 12.5 – 25 – 50 – 100 – 200 ng/mL of Ferritin added to sample gave an average value ( $\pm$ SD) of  $98.66\% \pm 2.90\%$ .

The dilution test performed on 3 samples diluted up to 8 times gave an average value ( $\pm$ SD) of  $102.11\% \pm 5.32\%$ .

**10.4. Sensitivity**

The lowest detectable concentration of Ferritin that can be distinguished from the Calibrator 0 is 0.04 ng/mL at the 95% confidence limit.

**10.5. Correlation with RIA**

Diametra Ferritin ELISA kit was compared to another commercially available Ferritin assay. Serum samples of 22 females and 32 males were analysed according in both test systems.

The linear regression curve was calculated  
 (Ferritin Diametra) =  $1.11 \cdot (\text{Ferritin Diasorin}) - 10.46$   
 $r^2 = 0.972$

**10.6. Hook Effect**

Ferritin ELISA kit, a competitive enzyme immunoassay, shows no Hook Effect up to 50000 ng/mL

**11. WASTE MANAGEMENT**

Reagents must be disposed off in accordance with local regulations.

**DiaMetra S.r.l. Headquarter:** Via Calabria 15  
20090 SEGRATE (MI) Italy

Tel. +39-02-2139184

Fax +39-02-2133354

**Manufactory:** Via Pozzuolo 14, 06038 SPELLO (PG)  
Italy

Tel. +39-0742-24851

Fax +39-0742-316197

E-mail: [info@diametra.com](mailto:info@diametra.com)

**BIBLIOGRAPHY**

- Walter G.O., et al J. Clin. Path . 29 770 - 772 (1973)
- Watanabe, N. et al Clin. Chem.,25/1 , 80 – 82 (1979)
- Van Oost, S.A. et al Clin. Chem ,28/12 ,2429 – 2433 (1982)
- Ronald H, et al Clin. Chem 29/6, 1109 - 1113 (1983)





DCM039-10  
Ed. 01/2016

# FERRITIN ELISA

para análisis de rutina

Determinación inmunoenzimática directa de Ferritina en suero o plasma humano

IVD



LOT

Ver etiqueta externa



$\Sigma = 96$  ensayos

REF DKO039

## USO PREVISTO

Método inmunoenzimático colorimétrico para la determinación cuantitativa de la concentración de Ferritina en suero y plasma.

El kit Ferritin ELISA está destinado al uso en laboratorio exclusivamente.

## 1. IMPORTANCIA CLÍNICA

La ferritina es una proteína globular que se encuentra principalmente en el hígado, que puede almacenar alrededor de 2250 iones de hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ). La molécula de ferritina (apoferritina) se compone de subunidades pesadas y ligeras alrededor de un núcleo cristalino que contiene óxido de hierro y fosfato. La ferritina es sintetizada en el hígado, el bazo y en muchos otros tejidos, las mayores concentraciones están presentes en el hígado, bazo, médula ósea y la mucosa intestinal.

Los niveles de ferritina tienen una correlación directa con la cantidad total de hierro almacenado en el cuerpo. Si el nivel de ferritina es alto hay un exceso de hierro que se excretará. Si el nivel de ferritina es bajo, se corre el riesgo de deficiencia de hierro que podría conducir a la anemia.

En el contexto de la anemia, la medición de la ferritina sérica es la prueba de laboratorio más sensible en la evaluación de la anemia por deficiencia de hierro. En contraste, los niveles de ferritina sérica pueden ser elevados o normales en las anemias asociadas a enfermedades crónicas.

Niveles elevados de ferritina sérica se han observado en la enfermedad hepática aguda o crónica, en la leucemia y en el linfoma de Hodgkin. Los niveles elevados de ferritina sérica se asocian con un mayor riesgo de infarto de miocardio en los hombres.

La ferritina también se utiliza como un indicador de los trastornos debidos a la sobrecarga de hierro como en la hemocromatosis, en la cual los niveles de ferritina pueden estar elevados.

La ferritina es un reactante de fase aguda, con frecuencia se eleva el curso de las enfermedades.

El hierro libre es tóxico para las células y el cuerpo tiene un elaborado conjunto de mecanismos de protección para unir el hierro en diferentes compartimentos de los tejidos. Dentro de las células, el hierro se almacena en forma de complejo con algunas proteínas como la ferritina o la hemosiderina.

El apoferritina se une al hierro ferroso libre y lo almacena en su estado ferrico.

En condiciones normales, el nivel de ferritina sérica está en equilibrio con los depósitos de hierro, por lo que el nivel de ferritina sérica es la prueba de laboratorio más eficaz para evaluar las reservas de hierro.

## 2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

La prueba Diametra Ferritin se basa en la captura simultánea de la Ferritin por dos anticuerpos monoclonales humanos, uno inmovilizado en la placa de microtitulación y el otro conjugado con peroxidasa de rábano otros (HRP).

Después de un cierto período de incubación la separación de las fracciones libre y unida se obtiene mediante un simple lavado de la fase sólida.

Por último, al reaccionar con el sustrato ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y el sustrato TMB, la enzima HRP presente en la fracción unida desarrolla una coloración azul que se torna amarilla tras añadir la solución de parada ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).

La intensidad del color desarrollado es proporcional a la concentración de Ferritina en la muestra.

La concentración de Ferritina en la muestra se calcula a partir de una curva de calibración.

## 3. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTOS

### 3.1 Reactivos y materiales incluidos en el kit

#### 1. Calibradores (6 frascos)

CAL0 (3 mL)

REF DCE002/3906-0

CAL1 (1 mL)

REF DCE002/3907-0

CAL2 (1 mL)

REF DCE002/3908-0

CAL3 (1 mL)

REF DCE002/3909-0

CAL4 (1 mL)

REF DCE002/3910-0

CAL5 (1 mL)

REF DCE002/3911-0

#### 2. Control

La concentración del Control se indica en el certificado de análisis (Certificate of Analysis)

REF DCE045/3903-0

#### 3. Conjugado (1 frasco, 12 mL)

Anticuerpo anti Ferritina conjugado con peroxidasa de rábano (HRP)

REF DCE002/3902-0

#### 4. Microplaca recubierta (1 microplaca divisible)

Anticuerpo anti Ferritina absorbido en la microplaca

REF DCE002/3903-0

5. Substrato TMB (1 frasco, 15 mL)  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB (0,26 g/L) (*evítese el contacto con la piel*)

**REF** DCE004-0

6. Solución de parada (1 frasco, 15 mL)  
Ácido sulfúrico 0,15 mol/L (*evítese el contacto con la piel*)

**REF** DCE005-0

7. Solución de lavado conc.10X (1 frasco, 50 mL)  
Tampón fosfato 0,2M pH 7.4

**REF** DCE054-0

### 3.2 Reactivos necesarios no incluidos en el kit

Agua destilada

### 3.3 Material e instrumental auxiliar

Dispensadores automáticos

Lector de microplacas (450 nm, 620-630 nm).

### Notas

Conservar los reactivos a oscuras, a temperatura entre 2 y 8 °C.

Atemperar a temperatura ambiente la bolsa del reactivo 4 (microplaca recubierta) antes de abrirla; cerrarla de inmediato después de sacar las tiras que se han de utilizar; una vez abierta, permanece estable hasta la fecha de caducidad del kit. No separe la hoja adhesiva de las tiras que no vaya a utilizar de inmediato.

## 4. ADVERTENCIAS

- Este kit de ensayo está previsto para usarse in vitro y por personal experto. No es para uso interno o externo en humanos o animales.
- Usar los equipos de protección individual previstos al trabajar con los reactivos suministrados.
- Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) en el manejo de las muestras sanguíneas y sus derivados.
- Todos los reactivos de origen humano usados en la preparación de los reactivos se han comprobado y han resultado negativos para la presencia de anticuerpos anti-VIH, para HbsAg y para anticuerpos anti-VHC. Sin embargo, ningún ensayo ofrece seguridad absoluta de la ausencia de VIH, VHB, VHC o de otros agentes infecciosos. Por lo tanto, los Calibradores y los Controles deben manipularse como material potencialmente infeccioso.
- Algunos reactivos contienen pequeñas cantidades de Proclin 300<sup>R</sup> como conservante. Evite el contacto con la piel y las mucosas.
- El cromógeno TMB contiene un irritante que puede ser dañino si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para prevenir lesiones, evitar la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y con los ojos.
- La Solución de Parada está formada por una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo, y puede ser tóxico si se ingiere. Para prevenir posibles quemaduras químicas, evitar el contacto con la piel y con los ojos.
- Evite la exposición de los reactivos TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a la luz solar directa, metales u oxidantes. No congelar la solución.

- Con este método pueden determinarse cuantitativamente valores de Ferritina desde 5 hasta 1000 ng/mL.

## 5. PRECAUCIONES

- Respetar rigurosamente la secuencia de los pasos indicados en este protocolo. Los resultados aquí presentados se han obtenido utilizando los reactivos específicos que figuran en estas instrucciones de uso.
- Todos los reactivos deben conservarse a una temperatura controlada de 2-8°C en sus recipientes originales. Todas las excepciones están claramente marcadas. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad cuando se almacenan y manipulan de acuerdo con las instrucciones proporcionadas.
- Antes del uso, esperar hasta que todos los componentes del kit y las muestras se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C) y mezclar cuidadosamente.
- No mezclar componentes de kits de lotes distintos. Se debe observar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja y de todas las ampollas. No usar componentes después de la fecha de caducidad.
- Si utiliza un equipo automático, es responsabilidad del usuario asegurar que la metodología aplicada haya sido debidamente validada.
- Un lavado incompleto o impreciso y la aspiración insuficiente del líquido de los micropozos ELISA pueden causar una precisión pobre y/o un elevado fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en los sistemas automatizados, se recomienda aumentar el número de lavados.
- Para la reproducibilidad de los resultados, es importante que el tiempo de reacción sea igual para cada pocillo. El tiempo de dispensación de los pocillos no debe superar los 10 minutos; si se prolongara más allá de los 10 minutos, respétese el orden de dispensación. Si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva de calibración en cada placa.
- Al añadir el Sustrato TMB se inicia una reacción cinética que termina al agregar la Solución de Parada. Tanto el Sustrato TMB como la Solución de Parada deben agregarse en la misma secuencia para evitar diferentes tiempos de reacción.
- Observar las directrices para la ejecución del control de calidad en los laboratorios clínicos al comprobar controles y/o pool de sueros.
- Observar la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No use muestras con contaminación microbiana, altamente lipémicas o hemolizadas.
- Los lectores de microplacas leen las DO verticalmente, por tanto no debe tocarse el fondo de los pocillos.

## 6. PROCEDIMIENTO

### 6.1. Preparación de los Calibradores (C<sub>0</sub>...C<sub>5</sub>)

Los Calibradores son listo para usar, son calibrados frente al estándar internacional WHO 1<sup>st</sup> IS Ferritin Human Liver 80/602, y tienen las siguientes concentraciones:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>
ng/mL	0	5	20	100	400	1000

Para muestras con una concentración superior a 1000 ng/mL, diluir la muestra con Calibrador 0.

Una vez abiertos, los Calibradores permanecen estables 6 meses conservados a 2-8 °C.

### 6.2. Preparación de la solución de lavado

Antes del uso, diluir el contenido del frasco de la "Solución de lavado conc. 10X" con agua destilada hasta un volumen de 500 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 1:10. La solución de lavado diluida se mantiene estable a 2÷8°C durante al menos 30 días.

En la solución de lavado concentrada es posible observar la presencia de cristales. En ese caso, agitar a temperatura ambiente hasta que los cristales se disuelvan por completo. Para una mayor precisión, diluir todo el frasco de la solución de lavado concentrada en 500 mL teniendo cuidado para transferir también los cristales y, a continuación, agitar hasta que se disuelvan por completo

### 6.3. Preparación de la muestra

La determinación de Ferritina se puede realizar en el plasma o suero humano. Las muestras se pueden conservar refrigeradas a 2-8°C durante un máximo de 5 días. Si no es posible analizarlas en dicho periodo de tiempo, se pueden conservar a una temperatura de -20°C.

Evite los ciclos de congelación y descongelación repetidos.

El Control es listo para usar.

### 6.4. Procedimiento

- **Esperar hasta que todos los reactivos se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C) durante al menos 30 minutos.** Al final del ensayo inmediatamente poner todos los reactivos a 2-8°C para evitar largos periodos a temperatura ambiente.
- Las tiras de pocillos no utilizados se deben guardar de inmediato en la bolsa desechable que contiene desecantes y almacenarse a 2-8°C.
- Para evitar la contaminación microbiana y/o química no regrese porciones de reactivos no usados en los viales originales.
- Para aumentar la precisión de los resultados de la prueba es necesario trabajar en duplicado: preparar dos pocillos para cada punto de la curva de calibración (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), dos para cada control, dos para cada muestra, uno para el blanco.

Reactivo	Calibrador	Muestra/Control	Blanco
Muestra/Control		20 µL	
Calibrador C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	20 µL		
Conjugado	100 µL	100 µL	
<p>Incubar 1 h a temperatura ambiente (22-28°C). Retirar la mezcla de reacción. Lave los pozos 3 veces con 0,3 mL de solución de lavado diluida.</p> <p><b>Nota importante:</b> agite suavemente la placa durante 5 segundos en cada paso del lavado. Después del último lavado asegúrese haber eliminado completamente la solución de lavado de los pozos, invierta la placa y golpéela repetidas veces contra una servilleta de papel absorbente.</p> <p><b>Lavados automático:</b> si está utilizando una lavadora automática, lavar los pocillos al menos 5 veces.</p>			
TMB Substrato	100 µL	100 µL	100 µL
<p>Incubar 10 minutos a temperatura ambiente (22÷28°C), protegida de la luz.</p>			
Solución de parada	100 µL	100 µL	100 µL
<p>Agitar suavemente la placa. Leer la absorbancia (E) a 450 nm frente una segunda lectura de referencia a 620-630 nm o frente al blanco dentro de los 5 minutos.</p>			

## 7. CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe analizar controles para los rangos bajo, medio y alto de ferritina para supervisar el rendimiento del análisis. Estas muestras deben tratarse como desconocidas y los valores deben determinarse en cada ensayo realizado. Se deben mantener los gráficos de control de calidad para seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Se deben emplear métodos estadísticos adecuados para determinar las tendencias. El laboratorio debe establecer los límites de aceptabilidad del rendimiento del análisis. Entre otros parámetros que se deben controlar, se incluyen las intersecciones de 80, 50 y 20% de la curva de calibración para evaluar la reproducibilidad. Además, la capacidad de absorción máxima debe ser constante con la experiencia anterior. Una desviación significativa del rendimiento establecido puede indicar un cambio inadvertido en las condiciones experimentales o la degradación de los reactivos del kit. Se deben usar reactivos frescos para determinar la causa de las variaciones.

## 8 RESULTADOS

### 8.1 Absorbancia media

Calcular la extinción media (Em) de cada punto de la curva de calibración (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>) y de cada muestra.

### 8.2 Curva de calibración

Trazar el gráfico de la absorbancia en función de las concentraciones de los Calibradores (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>). Trazar la curva de ajuste óptimo para los puntos de calibración (p. ej.: Logística de cuatro parámetros).

### 8.3 Cálculo de los resultados

Interpolar del gráfico los valores de absorbancia relativos a cada muestra y leer la concentración correspondiente en ng/mL.

## 9. VALORES DE REFERENCIA

Las concentraciones de Ferritina en suero o plasma están incluidas en los siguientes intervalos:

		Media (ng/mL)	Rango (ng/mL)
Mujeres	Fértil	53	6 - 180
	Post menopausicas	105	8 - 350
Varones		175	20 - 400

Es importante señalar que la determinación de un rango de valores esperados en un método dado para una población "normal" depende de muchos factores, tales como la especificidad y sensibilidad del método en uso, y la población en estudio. Por lo tanto, cada laboratorio debe considerar el intervalo especificado por el fabricante como una guía general y producir su propio rango de valores calculados en base al estadístico obtenido por el laboratorio, donde reside la población local.

## 10. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

### 10.1 Precisión

#### 10.1.1 Intra ensayo

La variabilidad dentro del mismo kit se determinó repitiendo (15x) tres niveles diferentes de sueros de control. La variabilidad dentro del ensayo es 7,5%.

#### 10.1.2 Entre ensayos

La variabilidad entre kits diferentes se determinó repitiendo (16x) tres niveles diferentes de suero de control con kit de lotes diferentes. La variabilidad entre ensayos es 6,1%.

### 10.4 Especificidad

El anticuerpo empleado presenta las siguientes reacciones cruzadas:

Liver Human Iso-Ferritin	100%
Splean Human Iso-Ferritin	80%
Heart Human Iso-Ferritin	12%

### 10.2 Exactitud

La prueba de recuperación realizada en muestras enriquecidas con 12.5 - 25 - 50 - 100 - 200 ng/mL de Ferritina ha dado un valor medio ( $\pm$ SE) de 98,66%  $\pm$  2,90%.

La prueba de dilución conducta en tres muestras diluidas 8 veces dió una media ( $\pm$ SD) de 102,11%  $\pm$  5,32%.

### 10.3 Sensibilidad

La concentración mínima de Ferritina detectable que puede distinguirse del Calibrador 0 es de 0,04 ng/mL con un límite de confianza del 95%.

### 10.5 Correlación

El Ferritina Diametra kit fue comparado con otro ensayo comercial de Ferritina. Se analizaron 22 muestras de suero de mujeres y 32 de hombres.

Se calculó la curva de regresión lineal:

(Diametra) = 1,11\*(Diasorin) - 10,46

r<sup>2</sup> = 0,972

## 11. INDICACIONES PARA LA ELIMINACIÓN

Eliminar los reactivos conforme con la normativa local sobre la materia.

## BIBLIOGRAFÍA

- Walter G.O., et al J. Clin. Path . 29 770 - 772 (1973)
- Watanabe, N. et al Clin. Chem., 25/1 80 – 82 (1979)
- Van Oost, S.A. et al Clin. Chem 28/12, 2429 – 2433 (1982)
- Ronald H, et al Clin. Chem 29/6, 1109 - 1113 (1983)

Ed. 01/2016

DCM039-10

**DiaMetra S.r.l. Headquater:** Via Calabria 15, 20090 SEGRATE (MI) Italy

Tel. +39-02-2139184

Fax +39-02-2133354

**Manufactory:** Via Pozzuolo 14, 06038 SPELLO (PG) Italy

Tel. +39-0742-24851

Fax +39-0742-316197

E-mail: [info@diametra.com](mailto:info@diametra.com)

	DE ES FR GB IT PT	In vitro Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico In vitro Dispositif medical de diagnostic in vitro In vitro Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico in vitro Dispositivos medicos de diagnostico in vitro		DE ES FR GB IT PT	Hergestellt von Elaborado por Fabriqué par Manufacturer Produttore Produzido por
	DE ES FR GB IT PT	Achtung, Begleitdokumente Precaución, consulte los documentos adjuntos Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement Caution, consult accompanying documents Attenzione, consultare la documentazione allegata Atenção, consultar os documentos de acompanhamento	 yyyy-mm	DE ES FR GB IT PT	Herstellungs datum Fecha de fabricacion Date de fabrication Date of manufacture Data di produzione Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE ES FR GB IT PT	Verwendbar bis Establa hasta (usar antes de último día del mes) Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) Use by (last day of the month) Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE ES FR GB IT PT	Biogefährdung Riesco biológico Risque biologique Biological risk Rischio biologico Risco biológico
	DE ES FR GB IT PT	Gebrauchsanweisung beachten Consultar las instrucciones Consulter le mode d'emploi Consult instructions for use Consultare le istruzioni per l'uso Consultar instruções para uso	<b>LOT</b>	DE ES FR GB IT PT	Chargenbezeichnung Codigo de lote Numero de lot Batch code Codice del lotto Codigo do lote
 $\Sigma = xx$	DE ES FR GB IT PT	Ausreichend für "n" Tests Contenido suficiente para "n" tests Contenu suffisant pour "n" tests Contains sufficient for "n" tests Contenuto sufficiente per "n" saggi Contém o suficiente para "n" testes	<b>CONT</b>	DE ES FR GB IT PT	Inhalt Contenido del estuche Contenu du coffret Contents of kit Contenuto del kit Conteúdo do kit
 Max Min	DE ES FR GB IT PT	Temperaturbereich Límitación de temperatura Limites de température de conservation Temperature limitation Limiti di temperatura Temperaturas limites de conservação	<b>REF</b>	DE ES FR GB IT PT	Bestellnummer Número de catálogo Références du catalogue Catalogue number Numero di Catalogo Número do catálogo
	DE ES FR GB IT PT	Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen Mantener alejado de la luz solar Tenir à l'écart de la lumière du soleil Keep away from sunlight Tenere lontano dalla luce solare Mantenha longe da luz solar			

**SUGGERIMENTI PER LA RISOLUZIONE DEI PROBLEMI/TROUBLESHOOTING****ERRORE CAUSE POSSIBILI/ SUGGERIMENTI****Nessuna reazione colorimetrica del saggio**

- mancata dispensazione del coniugato
- contaminazione del coniugato e/o del Substrato
- errori nell'esecuzione del saggio (es. Dispensazione accidentale dei reagenti in sequenza errata o provenienti da flaconi sbagliati, etc.)

**Reazione troppo blanda (OD troppo basse)**

- coniugato non idoneo (es. non proveniente dal kit originale)
- tempo di incubazione troppo breve, temperatura di incubazione troppa bassa

**Reazione troppo intensa (OD troppo alte)**

- coniugato non idoneo (es. non proveniente dal kit originale)
- tempo di incubazione troppo lungo, temperatura di incubazione troppa alta
- qualità scadente dell'acqua usata per la soluzione di lavaggio (basso grado di deionizzazione,)
- lavaggi insufficienti (coniugato non completamente rimosso)

**Valori inspiegabilmente fuori scala**

- contaminazione di pipette, puntali o contenitori- lavaggi insufficienti (coniugato non completamente rimosso)

**CV% intrasaggio elevato**

- reagenti e/o strip non portate a temperatura ambiente prima dell'uso
- il lavatore per micropiastre non lava correttamente (suggerimento: pulire la testa del lavatore)

**CV% intersaggio elevato**

- condizioni di incubazione non costanti (tempo o temperatura)
- controlli e campioni non dispensati allo stesso tempo (con gli stessi intervalli) (controllare la sequenza di dispensazione)
- variabilità intrinseca degli operatori

**ERROR POSSIBLE CAUSES / SUGGESTIONS****No colorimetric reaction**

- no conjugate pipetted reaction after addition
- contamination of conjugates and/or of substrate
- errors in performing the assay procedure (e.g. accidental pipetting of reagents in a wrong sequence or from the wrong vial, etc.)

**Too low reaction (too low ODs)**

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too short, incubation temperature too low

**Too high reaction (too high ODs)**

- incorrect conjugate (e.g. not from original kit)
- incubation time too long, incubation temperature too high
- water quality for wash buffer insufficient (low grade of deionization)
- insufficient washing (conjugates not properly removed)

**Unexplainable outliers**

- contamination of pipettes, tips or containers
- insufficient washing (conjugates not properly removed) too high within-run
- reagents and/or strips not pre-warmed to CV% Room Temperature prior to use
- plate washer is not washing correctly (suggestion: clean washer head)
- too high between-run - incubation conditions not constant (time, CV % temperature)
- controls and samples not dispensed at the same time (with the same intervals) (check pipetting order)
- person-related variation

**ERROR / POSIBLES CAUSAS / SUGERENCIAS****No se produce ninguna reacción colorimétrica del ensayo**

- no se ha dispensado el conjugado
- contaminación del conjugado y/o del sustrato
- errores en la ejecución del ensayo (p. ej., dispensación accidental de los reactivos en orden incorrecto o procedentes de frascos equivocados, etc.)

**Reacción escasa (DO demasiado bajas)**

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado corto, temperatura de incubación demasiado baja

**Reacción demasiado intensa (DO demasiado altas)**

- conjugado no idóneo (p. ej., no procedente del kit original)
- tiempo de incubación demasiado largo, temperatura de incubación demasiado alta
- calidad escasa del agua usada para la solución de lavado (bajo grado de desionización)
- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

**Valores inexplicablemente fuera de escala**

- contaminación de pipetas, puntas o contenedores- lavados insuficientes (el conjugado no se ha retirado completamente)

**CV% intraensayo elevado**

- los reactivos y/o tiras no se encontraban a temperatura ambiente antes del uso
- el lavador de microplacas no funciona correctamente (sugerencia: limpiar el cabezal del lavador)

**CV% interensayo elevado**

- condiciones de incubación no constantes (tiempo o temperatura)
- controles y muestras no dispensados al mismo tiempo (con los mismos intervalos) (controlar la secuencia de dispensación)
- variación en función de los operadores

**ERREUR CAUSES POSSIBLES / SUGGESTIONS****Aucune réaction colorimétrique de l'essai**

- non distribution du conjugué
- contamination du conjugué et/ou du substrat
- erreurs dans l'exécution du dosage (par ex., distribution accidentelle des réactifs dans le mauvais ordre ou en provenance des mauvais flacons, etc.)

**Réaction trop faible (DO trop basse)**

- conjugué non approprié (par ex., ne provenant pas du coffret original)
- temps d'incubation trop court, température d'incubation trop basse

**Réaction trop intense (DO trop élevée)**

- conjugué non approprié (par ex., ne provenant pas du coffret original)
- temps d'incubation trop long, température d'incubation trop élevée
- mauvaise qualité de l'eau utilisée pour la solution de lavage (bas degré de déionisation)
- lavages insuffisants (conjugué non entièrement éliminé)

**Valeurs inexplicablement hors plage**

- contamination des pipettes, embouts ou récipients - lavages insuffisants (conjugué non entièrement éliminé)

**CV% intra-essai élevé**

- les réactifs et/ou les bandes n'ont pas atteint la température ambiante avant usage
- le laveur de microplaques ne lave pas correctement (suggestion : nettoyer la tête du laveur)

**CV% inter-essai élevé**

- conditions d'incubation non constantes (temps ou température)
- contrôles et échantillons non distribués en même temps (avec les mêmes intervalles) (contrôler l'ordre de distribution)
- variabilité intrinsèque des opérateurs