

Ferritin



Only for in-vitro diagnostic use

Instructions for use / Notice d'utilisation / Instrucciones de uso

English	2
Français	9
Español	16
Bibliography / Bibliographie / Bibliografía	23
Abbreviations / Abréviations / Abreviaciones	26
Packaging materials / Matériels d'emballage / Materiales de embalaje	26
Symbols Key / Explication des symboles / Símbolos	27
Summary of Test Procedure / Résumé de la procédure de test / Resumen de la técnica	28

REF

DNOV100 (96 Determinations)

ENGLISH

1. INTRODUCTION

Ferritin is a protein mainly present in the cytoplasm but also found in serum and plasma as an iron-carrier protein. It contains, stores and releases iron in a controlled fashion. One molecule of ferritin is capable of binding between 4000 and 5000 atoms of iron, making ferritin the major iron storage protein for the body^{1,2}.

Iron is an essential micronutrient as it is required for an adequate erythropoietic function, oxidative mechanism and cellular immune response^{1,2,3}. Under physiologic conditions there is a balance between iron absorption, iron transport and iron storage in the human body. When this balance is interrupted, two main conditions may present: iron deficiency and iron overload^{1,2,4}. In humans, ferritin acts as a buffer against iron deficiency and overload.

Iron deficiency is the most common and widespread nutritional disorder in the world, affecting 2 billion people and in particular children, women of childbearing age with heavy menstrual flow and miscarriages, and premenopausal women. The WHO estimates that 30 % of nonpregnant and 42 % of pregnant women are affected by iron deficiency and anemia⁵⁻¹⁰.

Since the concentration of ferritin is directly proportional to the total iron stores in the body, serum ferritin concentrations are considered as a common diagnostic tool in the diagnosis of diseases affecting iron metabolism¹.

In addition to ferritin levels additional markers assessed as part of the routine diagnosis of iron deficiency are transferrin saturation and the assessment of haemoglobin levels. All these parameters should also be considered together with other parameters such as the familial history of the patients and the evaluation of clinical symptoms.

2. INTENDED USE

The Ferritin ELISA is a manual *in vitro* diagnostic device intended for the quantitative determination of ferritin in human serum or plasma from an adult population. Results are to be used in conjunction with other clinical and laboratory data as an aid in the diagnosis of diseases affecting iron metabolism.

3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The Ferritin assay is based on simultaneous binding of human Ferritin to two monoclonal antibodies; one is immobilized on the microplate; the other is soluble and conjugated with horseradish peroxidase (HRP). Microtiter strip wells are precoated with anti-Ferritin antibodies. Ferritin in samples and standards binds to the immobilised antibodies on the surface of the microtiter wells and the second, soluble anti-Ferritin antibody conjugated with HRP binds to the immobile antibody-Ferritin-complex during the first incubation. Afterwards a bound/free separation is performed by solid-phase washing. The immune complex is visualized by adding Tetramethylbenzidine (TMB) substrate, develops a blue colour that changes into yellow when the Stop Solution (H₂SO₄) is added. The intensity of this product is proportional to the amount of Ferritin in samples and standards. Sulphuric acid is added to stop the reaction. Absorption at 450 nm is read using an ELISA microwell plate reader. Ferritin concentration in the sample is calculated through a calibration curve.

4. MATERIALS

4.1. Reagents supplied

- **Microtiterplate:** 12 breakapart 8-well snap-off strips coated with anti-Ferritin antibody; in resealable aluminium foil.
- **Stop Solution:** 1 bottle containing 15 mL sulphuric acid, < 5 % (w/v); avoid any skin contact.
- **Conjugate:** 1 bottle containing 21 mL of horseradish peroxidase (HRP) labelled anti-Ferritin antibodies; < 0.06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **TMB Substrate Solution:** 1 bottle containing 15 mL 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (H₂O₂-TMB 0.26 g/L) (avoid any skin contact); < 0.0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Wash Solution 10x conc.:** 1 bottle containing 50 mL Phosphate buffer 0.2 M, pH 7.4; < 0.06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Control:** 1 bottle containing 1 mL of a lot-specific, ready to use control solution. The concentration is stated on the label; < 0.06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Standards:** 6 bottles, 3 mL of Standard 0, 1 mL each of all other standards. The standards are ready to use and are provided at the following concentrations; < 0.06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Standard 0: 0 ng/mL

Standard 1: 5 ng/mL

Standard 2: 20 ng/mL

Standard 3: 100 ng/mL

Standard 4: 400 ng/mL

Standard 5: 800 ng/mL

For hazard and precautionary statements see 16.1

4.2. Materials supplied

- 1 Cover foil
- 1 Instructions for use (IFU)

4.3. Materials and Equipment needed

- ELISA microwell plate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450 nm, 620-630 nm
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Precision Pipetting Devices
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 µL
- Roller shaker
- Distilled water
- Disposable tubes
- Timer

5. STABILITY AND STORAGE

The reagents are stable until the expiration date indicated on the label when stored at 2...8 °C. Once opened, the kit is stable for 5 months (not beyond the expiration date indicated on the label) if stored at 2...8 °C.

6. REAGENT PREPARATION

It is very important to bring all reagents, samples and standards to room temperature (22...28 °C) for at least 30 minutes before starting the test run! At the end of the assay, store immediately the reagents at 2...8 °C; avoid long exposure to room temperature.

6.1. Coated snap-off Strips

The ready to use break apart snap-off strips are coated with anti-Ferritin antibodies. Store at 2...8 °C. Immediately after removal of strips, the remaining strips should be resealed in the aluminium foil along with the desiccant supplied and stored at 2...8 °C; stability until expiry date. Once opened, the strips are stable for 5 months (not beyond the expiration date indicated on the label).

6.2. Conjugate

The conjugate is ready to use. Mix gently, for 5 minutes, on a roller shaker.

6.3. Standards

The standards are ready to use. After first opening standards are stable for another 5 months at 2...8° C.

6.4. TMB Substrate Solution

The bottle contains 15 mL of a tetramethylbenzidine/hydrogen peroxide system. The reagent is ready to use and has to be stored at 2...8 °C in the dark. *The solution should be colourless or could have a slight blue tinge. If the substrate turns into blue, it may have become contaminated and should be thrown away.*

6.5. Stop Solution

The bottle contains 15 mL of a ready to use sulphuric acid solution (H314).

6.6. 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 it 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.

6.7. Control

The bottle contains 1 mL of a lot-specific, ready to use control solution.

7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

The assay should be performed using serum (standard sampling tubes or tubes containing serum separating gel) or plasma (lithium heparin, sodium heparin or potassium EDTA) samples. Specimen can be stored at 2...8 °C for a short time (max three days). For longer storage the specimen should be aliquoted and stored deep-frozen (-20 °C). If samples are stored frozen, mix thawed samples well before testing. *Avoid repeated freezing and thawing (max 3 cycles).*

Store the sample at -20°C if the determination is not performed on the same day of the sample collection. Before using, mix gently, for 5 minutes, with a roller shaker.

7.1. Precaution

- Avoid the exposure of TMB substrate to direct sunlight, metal or oxidants. Do not freeze the solution.
- Maximum precision is required for dilution and dispensation of the reagents.

8. ASSAY PROCEDURE

8.1. Test Preparation

Please read the test instructions for use carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the instructions for use as described. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all specimens and standards should be carefully established. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If it lasts more than ten minutes, please follow the same order during the dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve. Please allocate at least:

1 well	(e.g. A1)	for the substrate blank
2 wells	(e.g. B1+C1)	for standard 0
2 wells	(e.g. D1+E1)	for standard 1
2 wells	(eg. F1+G1)	for standard 2
2 wells	(eg. H1+A2)	for standard 3
2 wells	(eg. B2+C2)	for standard 4
2 wells	(eg. D2+E2)	for standard 5
2 wells	(e.g. F2+G2)	for control

It is recommended to determine standards and patient samples in duplicate.

Perform all assay steps in the order given and without any appreciable delays between the steps.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each standard and each patient sample.

1. Dispense 10 µL standards, control and samples into their respective wells. Add 200 µL conjugate to each well. Leave well A1 for substrate blank.
2. Cover wells with the foil supplied in the kit.
3. **Incubate for 1 hour at room temperature (22...28 °C)**
4. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content of the wells and wash each well three times with 300 µL diluted Wash Solution. Avoid overflows from the reaction wells.

Important note: 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.

Automatic washer: In case you use automatic equipment, wash the wells at least 5 times.

Note: Washing is critical! Insufficient washing results in poor precision and falsely elevated absorbance values.

5. Dispense 100 µL TMB Substrate Solution into all wells.
6. **Incubate for exactly 15 min at room temperature (22...28 °C) in the dark.**
7. Dispense 100 µL Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate Solution. Shake the microplate gently.
Any blue colour developed during the incubation turns into yellow.
8. Measure the absorbance of the specimen at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against blank within 5 minutes.

8.2. Measurement

Adjust the ELISA Microwell Plate Reader **to zero** using the **substrate blank in well A1**.

If - due to technical reasons - the ELISA reader cannot be adjusted to zero using the substrate blank in well A1, subtract the absorbance value of well A1 from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!

Measure the absorbance of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each standard and sample.

Where applicable calculate the **mean absorbance values** of all duplicates.

9. CALCULATION OF RESULTS

A variety of data reduction software packages are available, which may be employed to generate the mean calibration curve and to calculate the mean concentrations of unknown samples and controls. A cubic spline or 4-parameter logistic (4PL) curve fit, **including Standard 0 is recommended.**

Alternatively, a calibration curve may be prepared on semi-log graph paper by plotting mean absorbance on the Y-axis against concentration of analyte on the X-axis. Standard 0 should be included in the calibration curve. Read the mean absorbance value of each unknown sample off the curve.

In order for the assay results to be considered valid the kit standards and control must fall within the specifications detailed in the lot specific certificate of analysis.

If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and samples must be retested.

10. QUALITY CONTROL

Good Laboratory Practice (GLP) requires the use of quality control specimens in each series of assays in order to check the performance of the assay. Controls should be treated as unknown samples, and the results analysed with appropriate statistical methods.

The kit control provided in the kit should be tested as unknown and is intended to assist in assessing the validity of results obtained with each assay plate.

We recommend the users to maintain graphic records of the control values generated with each assay run, including the running means, SDs and %CVs. This information will facilitate the controls trending analysis relating to the performance of current and historical control lots relative to the supplied Quality Control data. The trending will assist in the identification of assays which give control values significantly different from their average range.

When interpreting control data, users should note that this product was designed and developed as a manual product. The range stated on the Certificate of Analysis (CoA) should be appropriate for assays that are performed manually and with strict adherence to the Assay Procedure described above. It is recognised by Quality Control professionals, that as a result of differences in conditions and practices, there will always be variability in the mean values and precision of control measurements between different laboratories¹².

11. MEASURING RANGE

The assay measuring range (AMR) is 2.84 – 800 ng/mL.

Any value that reads below 2.84 ng/mL should be reported as “< 2.84 ng/mL”. Any value that reads above 800 ng/mL should be reported as “> 800 ng/mL”.

12. METROLOGY AND TRACEABILITY

The Ferritin ELISA has been standardized against internal reference standards (serum matrix) which have been value assigned to another commercially available test method.

13. EXPECTED VALUES

The following ranges were determined using the Ferritin ELISA and are provided for information only. The 95 % reference interval for apparently healthy adults were calculated by a non-parametric method following guidance from CLSI C28-A “Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory”.

		n°	Median (ng/mL)	Reference interval (ng/mL)
Women	Pre-menopausal	42	33.5	8.4– 156.9
	Post-menopausal	42	44.8	16.8 – 180.8
Men		84	122.5	21.7 – 276.4

The above ranges should be considered as guidelines only; it is recommended that each laboratory establish its own expected range based upon its own patient population.

14. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The results refer to the groups of samples investigated; these are not guaranteed specifications.

14.1. Detection Capability

The limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ) were determined with guidance from CLSI EP17-A, “Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation” using 6 blanks and 6 low level samples.

Sensitivity	Concentration
Limit of Blank (LoB)	0.35 ng/mL
Limit of Detection (LoD)	2.00 ng/mL
Limit of Quantitation (LoQ)	2.84 ng/mL

14.2. Trueness

Trueness has been demonstrated through method comparison of the Ferritin ELISA to a commercially available LC-MS/MS using native donor samples – refer to section 14.5.

14.3. Precision

Precision of the Ferritin ELISA was determined by performing a complex precision study.

Repeatability (within laboratory)

A total of 6 serum samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators. Data from one representative lot is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (ng/mL)	Within run (Repeatability)	
			SD	CV%
1	75	9.21	1.23	13.3%
2	75	68.30	2.47	3.6%
3	75	178.38	9.44	5.3%
4	75	380.97	26.54	7.0%
5	75	467.72	25.58	5.5%
6	75	619.17	51.33	8.3%

Reproducibility

A total of 6 serum samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators.

Data from one representative lot is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (ng/mL)	Within Laboratory (Reproducibility)	
			SD	CV%
1	150	8.96	1.21	13.5%
2	150	67.85	4.31	6.4%
3	150	177.92	14.14	7.9%
4	150	377.41	32.10	8.5
5	150	460.17	46.83	10.2%
6	150	614.18	75.43	12.3%

14.4. Linearity

Linearity was evaluated based on CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". For ferritin concentration by Ferritin ELISA, the measurement procedure shows linearity for the interval from 2.5 to 849 ng/mL within the allowable deviation of linearity (ADL) of $\pm 15\%$.

14.5. Method comparison

The Ferritin ELISA was compared against a commercially available quantitative automated ferritin assay, following CLSI EP-9A, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". A total of 100 samples, selected to represent a wide range of ferritin concentrations [15.65 to 782 ng/mL], were assayed by each method. Passing-Bablok regression analysis was performed on the comparative data:

n	Slope [95% CI]	Intercept (ng/mL) [95% CI]	Correlation coefficient (r)
100	0.96 [0.92 to 1.01]	0.24 [-5.46 to 3.07]	0.96

14.6. Interference

The following substances do not interfere with a bias of $> \pm 15\%$ in the Ferritin ELISA when the concentrations are below the stated threshold presented in the following table.

Potentially Interfering Substance	Threshold Concentration
Bilirubin, conjugated	15 mg/dL
Bilirubin, unconjugated	15 mg/dL
Hemoglobin	1000 mg/dL
Total Protein	10 g/dL
Triglycerides	3000 mg/dL

14.7. Serum-plasma study

The Ferritin ELISA matrix comparison study was performed to evaluate the difference across tube types (serum separator tubes (SST), lithium heparin plasma, sodium heparin plasma and K2 EDTA plasma) versus the control samples (red top serum, without additive) following CLSI EP9-A3 guidelines. A total of 20 samples covering the assay range were evaluated. Passing-Bablok regression analysis was performed on the comparative data:

Sample Type	Slope [95% CI]	Intercept (ng/mL) [95% CI]	Correlation coefficient (r)
SST	1.02 [0,99 to 1,25]	-1.02 [-4.98 – 0.28]	1.00
Lithium Heparin	1.04 [0.95 – 1.09]	-1.61 [-3.33 – 0.42]	1.00
Sodium Heparin	1.07 [0.98 – 1.21]	-1.92 [-4.51 – -0.22]	1.00
EDTA	0.97 [0.88 – 1.06]	-1.02 [-3.24 – 0.66]	1.00

14.8. Hook Effect

The Ferritin ELISA, a competitive enzyme immunoassay, shows no Hook Effect up to 10,000 ng/mL.

15. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- As in the case of any diagnostic procedure, results must be interpreted in conjunction with the patient's clinical presentation and other information available to the physician.
- The performance characteristics of this assay have not been established in a paediatric population.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with in vitro immunoassays¹³. Patients routinely exposed to animals or to animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed.


16. PRECAUTIONS AND WARNINGS

- The test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use by professional persons. Not for internal or external use in humans or animals.
- Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
- Do not interchange reagents or strips of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic, icteric or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
- 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.
- Some reagents (standards, control, conjugate and wash solution) contain small amounts of CMIT/MIT 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.
- 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.
- The ELISA is only designed for qualified personnel following the standards of good laboratory practice (GLP).

16.1. Safety note for reagents containing hazardous substances

Reagents may contain CMIT/MIT (3:1) (refer to 4.1)

Therefore, the following hazard and precautionary statements apply.

Warning 	H317	May cause an allergic skin reaction.
	P261	Avoid breathing gas/mist/vapours/spray.
	P280	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
	P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
	P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
	P362+P364	Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

Further information can be found in the safety data sheet

16.2. Disposal Considerations

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

For information about the packaging materials refer to PACKAGING MATERIALS.

17. ORDERING INFORMATION

REF	DNOV100	Ferritin	(96 Determinations)
------------	---------	----------	---------------------

FRANÇAIS

1. INTRODUCTION

La ferritine est une protéine principalement présente dans le cytoplasme mais que l'on retrouve également dans le sérum et le plasma en tant que protéine porteuse de fer. Elle contient, stocke et libère le fer de manière contrôlée. Une molécule de ferritine est capable de fixer entre 4000 et 5000 atomes de fer, ce qui fait de la ferritine la principale protéine de stockage du fer dans l'organisme^{1,2}.

Le fer est un micronutriment essentiel car il est nécessaire à une fonction érythropoïétique adéquate, au mécanisme d'oxydation et à la réponse immunitaire cellulaire^{1,2,3}. Dans des conditions physiologiques, il existe un équilibre entre l'absorption du fer, son transport et son stockage dans le corps humain. Lorsque cet équilibre est interrompu, deux conditions principales peuvent se présenter : la carence en fer et la surcharge en fer^{1,2,4}. Chez l'homme, la ferritine agit comme un tampon contre la carence et la surcharge en fer.

La carence en fer est le trouble nutritionnel le plus courant et le plus répandu dans le monde, affectant 2 milliards de personnes et en particulier les enfants, les femmes en âge de procréer ayant un flux menstruel abondant et des fausses couches, et les femmes préménopausées. L'OMS estime que 30 % des femmes non enceintes et 42 % des femmes enceintes sont touchées par la carence en fer et l'anémie⁵⁻¹⁰.

Comme la concentration de ferritine est directement proportionnelle aux réserves totales de fer dans l'organisme, les concentrations de ferritine sérique sont considérées comme un outil de diagnostic courant dans le diagnostic des maladies affectant le métabolisme du fer¹.

Outre les taux de ferritine, d'autres marqueurs évalués dans le cadre du diagnostic de routine de la carence en fer sont la saturation de la transferrine et l'évaluation des taux d'hémoglobine. Tous ces paramètres doivent également être considérés avec d'autres paramètres tels que l'histoire familiale des patients et l'évaluation des symptômes cliniques.

2. INDICATION D'UTILISATION

Ferritin ELISA est un dispositif manuel de diagnostic *in vitro* destiné à la détermination quantitative de la ferritine dans le sérum ou le plasma humain d'une population adulte. Les résultats doivent être utilisés en conjonction avec d'autres données cliniques et de laboratoire comme aide au diagnostic des maladies affectant le métabolisme du fer.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le test Ferritine est basé sur la combinaison simultanée de la ferritine humaine à deux anticorps monoclonaux ; l'un est immobilisé sur la microplaque, l'autre est soluble et conjugué à la peroxydase de raifort (HRP). Les puits de la microplaque sont pré-revêtus d'anticorps anti-Ferritine. La ferritine présente dans les échantillons et les étalons se lie aux anticorps immobilisés à la surface des puits de microtitration et le second anticorps anti-Ferritine soluble conjugué à la HRP se lie au complexe anticorps-Ferritine immobile pendant la première incubation. Ensuite, une séparation lié/libre est effectuée par un lavage en phase solide. Le complexe immunitaire est visualisé en ajoutant le substrat de tétraméthylbenzidine (TMB), qui développe une couleur bleue qui se transforme en jaune lorsque la solution d'arrêt (H₂SO₄) est ajoutée. L'intensité de ce produit est proportionnelle à la quantité de Ferritine dans les échantillons et les standards. Un lecteur de microplaques ELISA permet la lecture de l'absorption à 450 nm. La concentration de ferritine dans l'échantillon est calculée à l'aide d'une courbe d'étalonnage.

4. MATERIELS

4.1. Réactifs fournis

- **Plaque de Microtitrage** : 12 bandes détachables enduites d'Anti-Ferritine de 8 puits, en sachet d'aluminium refermable.
- **Solution stop** : 1 flacon contenant 15 mL d'acide sulfurique, < 5 % (w/v); éviter tout contact avec la peau.
- **Conjugué** : 1 flacon contenant 21 mL d'Anti-Ferritine marqué à la peroxydase de raifort (HRP) ; < 0,06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Solution de TMB** : 1 flacon contenant 15 mL de 3,3',5,5'-Tétraméthylbenzidine (H₂O₂-TMB 0.26g/L) (éviter tout contact avec la peau) ; < 0,0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Solution de lavage (concentrée x 10)** : 1 flacon contenant 50 mL du tampon phosphate 0.2 M, pH 7,4 ; < 0,06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Contrôle** : 1 flacon contenant 1 mL d'un lot spécifique solution de contrôle prête à l'emploi. La concentration est indiquée sur l'étiquette ; < 0,06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Étalons** : 6 flacons, 3 mL de l'étalon 0, 1 mL chacun étalons 1-5. Les étalons sont prêts à l'emploi et sont fournis aux teneurs suivantes ; < 0,06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Etalon 0:	0 ng/mL
Etalon 1:	5 ng/mL
Etalon 2:	20 ng/mL
Etalon 3:	100 ng/mL
Etalon 4:	400 ng/mL
Etalon 5:	800 ng/mL

Pour les mentions de danger et les conseils de prudence voir chapitre 16.1

4.2. Matériels fournis

- 1 couvercle autocollante
- 1 notice d'utilisation

4.3. Matériels et équipements requis

- Lecteur de microplaques ELISA, pour mesure l'absorbance à 450 nm, 620-630 nm
- Equipement manuel ou automatique pour le rinçage des puits
- Dispositifs de pipetage de précision
- Pipettes
- Agitateur à rouleaux
- Eau distillée
- Tubes jetables
- Chronomètre

5. STABILITÉ ET CONSERVATION

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de validité indiquée sur l'étiquette s'ils sont conservés à 2...8 °C. Une fois ouvert, le kit est stable pendant 5 mois (non au-delà de la date de validité indiquée sur l'étiquette) s'il est conservé à 2...8 °C.

6. PREPARATION DES REACTIFS

Il est très important que tous les réactifs, échantillons et contrôles soient portés à température ambiante (22...28 °C) pendant au moins 30 minutes avant de commencer le dosage ! À la fin de l'essai conservent les réactifs immédiatement à 2...8 °C ; évitez la longue exposition à température ambiante.

6.1. Plaque de Microtitrage

Les bandes détachables sont enduites d'anticorps anti-Ferritine et sont prêtes à l'emploi. Conserver entre 2...8 °C. Immédiatement après le retrait des bandes, les bandes restantes doivent être refermées dans la feuille d'aluminium avec le dessiccant fourni et conservées à 2...8 °C; elles sont stables jusqu'à la date de péremption. Une fois ouvert, les bandes sont stables pendant 5 mois (pas au-delà de la date de validité indiquée sur l'étiquette).

6.2. Conjugué

Le conjugué est prêt à l'emploi. Mélanger doucement, pendant 5 minutes, sur un agitateur à rouleaux.

6.3. Etalons

Les étalons sont prêts à l'emploi. Après la première utilisation les étalons restent stables pendant encore 5 mois s'ils sont conservés à 2...8° C.

6.4. Solution TMB

Le flacon contient 15 mL d'un mélange de peroxyde d'hydrogène et de tétraméthylbenzidine. Le réactif est prêt à l'emploi et doit être conservé 2...8 °C à l'obscurité. *La solution doit être incolore ou avoir une légère teinte bleue. Si le substrat devient bleu, il a pu être contaminé et doit être remplacé.*

6.5. Solution Stop

Le flacon contient une solution d'acide sulfurique (H314) à l'emploi.

6.6. Solution de lavage

Diluer le contenu de la solution de lavage concentrée avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 500 mL avant utilisation. Pour les petits volumes respecter la dilution au 10ème. La solution de lavage diluée est stable pendant 30 jours entre 2...8 °C. Il est possible d'observer la présence de cristaux dans la solution de lavage concentrée, dans ce cas, mélanger à température ambiante jusqu'à la dissolution complète des cristaux, pour une meilleure efficacité diluer tout le flacon de solution de lavage jusqu'à 500 mL en surveillant le transfert de cristaux avec le lavage de la bouteille, puis mélanger jusqu'à la dissolution complète des cristaux.

6.7. Contrôle

Le flacon contient 1 mL d'une solution de contrôle prête à l'emploi.

7. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Le test doit être réalisé à partir d'échantillons de sérum (tubes d'échantillonnage standard ou tubes contenant un gel séparateur de sérum) ou de plasma (héparine de lithium, héparine de sodium ou EDTA de potassium). L'échantillon peut être conservé à 2...8 °C pendant une courte période (trois jours maximum). Pour une conservation plus longue, l'échantillon doit être aliquoté et stocké surgelé (-20 °C). Si les échantillons sont conservés congelés, bien mélanger les échantillons décongelés avant de les tester. Évitez les congélations et décongélations répétées (trois cycles maximum).

Conserver l'échantillon à -20 °C si la détermination n'est pas effectuée le jour même du prélèvement de l'échantillon. Avant utilisation, mélanger doucement pendant 5 minutes à l'aide d'un agitateur à rouleaux.

Précaution d'usage

- Éviter l'exposition du réactif TMB/H₂O₂ à la lumière directe du soleil, aux métaux et aux substances oxydantes. Ne pas congeler la solution.
- Observer la plus grande précision dans la reconstitution et la distribution des réactifs.

8. PROCEDE DU DOSAGE

8.1. Préparation du dosage

Lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le dosage. La fiabilité des résultats dépend du suivi strict d'utilisation comme décrit Avant de commencer le dosage, déterminer le plan de distribution et d'identification des échantillons et des contrôles. Sélectionner le nombre de bandes ou de puits nécessaires et les placer sur le support. Le pipetage des échantillons ne doit pas prendre plus de 10 minutes afin d'éviter toutes dérives du dosage. Si cela dure plus de 10 minutes, suivre le même ordre d'utilisation. Si plusieurs plaques sont utilisées, il est recommandé de répéter la courbe dose/réponse. Réserver au moins :

1 puits	(ex. A1)	Pour le blanc
2 puits	(ex. B1+C1)	Pour l'étalon 0
2 puits	(ex. D1+E1)	Pour l'étalon 1
2 puits	(ex. F1+G1)	Pour l'étalon 2
2 puits	(ex. H1+A2)	Pour l'étalon 3
2 puits	(ex. B2+C2)	Pour l'étalon 4
2 puits	(ex. D2+E2)	Pour l'étalon 5
2 puits	(ex. F2+G2)	Pour le contrôle

Il est recommandé de déterminer les contrôles et les échantillons du patient en doublets.

Réaliser toutes les étapes du dosage dans l'ordre donné et sans interruption entre les étapes.

Un cône de pipette propre et jetable doit être utilisé pour distribuer chaque contrôle et échantillon.

1. Pipeter 10 µl des étalons, de contrôle et d'échantillons dans leurs puits respectifs. Ajouter 200 µl de conjugué dans chaque puits. Garder le puits A1 pour le blanc.
2. Couvrir les puits avec le couvercle fourni dans le kit.
3. **Incuber pendant 1 heure à température ambiante (22...28 °C).**
4. À la fin de l'incubation, enlever le couvercle, aspirer le contenu des puits et laver chaque puits trois fois avec 300 µL de solution de lavage diluée. Eviter les débordements de puits de réaction.

Note importante : Pendant chaque pas de lessive, secouez doucement la plaque depuis 5 secondes et enlevez la solution d'excès en tapant la plaque inversée sur un essuie-mains en papier absorbant.

Équipement automatisé : Si vous utilisez l'équipement automatisé, lavez les puits au moins 5 fois.

Note : L'étape de lavage est très importante ! Un lavage insuffisant peut conduire à une précision faible et des valeurs d'absorbance faussement élevées.

5. Pipeter 100 µL de solution de TMB dans tous les puits.
6. **Incuber pendant exactement 15 min à température ambiante (22...28 °C) à l'obscurité.**
7. Pipeter 100 µL de solution stop dans tous les puits dans le même ordre à la même vitesse que pour la solution de TMB. Secouer doucement la microplaque.
La couleur bleue développée pendant l'incubation vire au jaune.
8. Mesurer l'absorbance des échantillons à 450 nm contre une longueur d'onde de référence de 620-630 nm ou contre le blanc au cours de 5 minutes.

8.2. Mesure

Faire le **zéro** du lecteur de Plaque de Microtitrage ELISA à l'aide du blanc dans le puits A1.

Si - pour des raisons techniques - le lecteur Plaque de Microtitrage ELISA ne peut pas être ajusté à zéro en utilisant le blanc dans le puits A1, soustraire la valeur d'absorbance du puits A1 de toutes les autres valeurs d'absorbance mesurées afin d'obtenir des résultats fiables !

Mesurer l'absorbance de tous les puits à 450 nm et enregistrer les valeurs d'absorbance pour chaque contrôle et échantillon de patient

Calculer les valeurs moyennes d'absorbance pour tous les doublets, si nécessaires.

9. CALCUL DES RÉSULTATS

Il existe une variété de logiciels de réduction des données, qui peuvent être utilisés pour générer la courbe d'étalonnage moyenne et pour calculer les concentrations moyennes des échantillons inconnus et des contrôles. Il est recommandé d'utiliser un ajustement de courbe de type spline cubique ou logistique à 4 paramètres (4PL), **incluant le étalons 0 est recommandé.** On peut également préparer une courbe d'étalonnage sur du papier graphique semi-logarithmique en traçant l'absorbance moyenne sur l'axe des Y en fonction de la concentration de l'analyte sur l'axe des X. L'étalon 0 doit être inclus dans la courbe d'étalonnage. Lisez la valeur d'absorbance moyenne de chaque échantillon inconnu sur la courbe.

Pour que les résultats de l'analyse soient considérés comme valables, les étalons et le contrôle du kit doivent se situer dans les limites des spécifications indiquées dans le certificat d'analyse spécifique au lot.

Si un contrôle se situe en dehors de la plage spécifiée, les résultats du test associé ne sont pas valables et les échantillons doivent être testés à nouveau.

10. CONTROLE QUALITE

Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) exigent l'utilisation d'échantillons de contrôle de qualité dans chaque série de tests afin de vérifier la performance du test. Les contrôles doivent être traités comme des échantillons inconnus, et les résultats analysés à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

Le contrôle fourni dans le kit doit être testé comme un échantillon inconnu et est destiné à aider à évaluer la validité des résultats obtenus avec chaque plaque de test.

Nous recommandons aux utilisateurs de conserver des enregistrements graphiques des valeurs de contrôle générées avec chaque série de tests, y compris les moyennes courantes, les SD (écart-type) et les CV%. Ces informations faciliteront l'analyse des tendances des contrôles concernant la performance des lots de contrôle actuels et historiques par rapport aux données de contrôle de qualité fournies. L'analyse des tendances aidera à identifier les essais qui donnent des valeurs de contrôle significativement différentes de leur plage moyenne.

Lors de l'interprétation des données de contrôle, les utilisateurs doivent noter que ce produit a été conçu et développé comme un produit manuel. La plage indiquée sur le *Certificate of Analysis (CoA)* doit être appropriée pour les analyses effectuées manuellement et en respectant strictement la procédure d'analyse décrite ci-dessus. Les professionnels du contrôle qualité reconnaissent qu'en raison des différences de conditions et de pratiques, il y aura toujours une variabilité des valeurs moyennes et de la précision des mesures de contrôle entre les différents laboratoires¹².

11. INTERVALLE DE MESURE

L'intervalle de mesure du dosage (AMR - assay measuring range) est comprise entre 2,84 et 800 ng/mL.

Toute valeur inférieure à 2,84 ng/mL doit être signalée comme "< 2,84 ng/mL". Toute valeur supérieure à 800 ng/mL doit être signalée comme "> 800 ng/mL".

12. MÉTROLOGIE ET TRAÇABILITÉ

Le test Ferritin ELISA a été normalisé par rapport à des normes de référence internes (matrice sérique) dont la valeur a été attribuée à une autre méthode de test disponible dans le commerce.

13. VALEURS ATTENDUES

Les intervalles suivants ont été déterminés à l'aide du test Ferritin ELISA et sont fournis à titre d'information uniquement. L'intervalle de référence à 95 % pour les adultes apparemment en bonne santé a été calculé par une méthode non paramétrique selon les directives du document CLSI C28-A "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

		n°	Médiane (ng/mL)	Intervalle de référence (ng/mL)
Femmes	Pré-ménopausées	42	33,5	8,4 – 156,9
	Post-ménopausées	42	44,8	16,8 – 180,8
Hommes		84	122,5	21,7 – 276,4

Les fourchettes ci-dessus doivent être considérées comme des lignes directrices uniquement; il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fourchette attendue en fonction de sa propre population de patients.

14. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Ces résultats s'appuient sur les groupes d'échantillons étudiés ; il n'agit pas de caractéristiques techniques garanties.

14.1. Capacité de détection

La Limite du Blanc (LoB), la Limite de Détection (LoD) et la Limite de Quantification (LoQ) ont été déterminées selon les directives de CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation" en utilisant 6 blancs et 6 échantillons de faible niveau.

Sensibilité	Concentration
Limite du Blanc (LoB)	0,35 ng/mL
Limite de Détection (LoD)	2,00 ng/mL
Limite de Quantification (LoQ)	2,84 ng/mL

14.2. Justesse

La justesse a été démontrée par la comparaison de la méthode Ferritin ELISA avec un test LC-MS/MS disponible dans le commerce utilisant des échantillons de donneurs natifs, voir section 14.5.

14.3. Précision

La précision du test Ferritin ELISA a été déterminé en effectuant une étude de précision complexe.

Répétabilité (dans laboratoire)

Un total de 6 échantillons de sérum a été analysé en 5 répétitions, une fois par jour pendant 5 jours par 3 opérateurs. Les données d'un lot représentatif sont présentées ci-dessous :

Échantillon	n	Conc. moyenne (ng/mL)	Au cours d'une même série (répétabilité)	
			Écart-type	CV%
1	75	9,21	1,23	13,3%
2	75	68,30	2,47	3,6%
3	75	178,38	9,44	5,3%
4	75	380,97	26,54	7,0%
5	75	467,72	25,58	5,5%
6	75	619,17	51,33	8,3%

Reproductibilité

Un total de 6 échantillons de sérum a été analysé en 5 répétitions, une fois par jour pendant 5 jours par 3 opérateurs. Les résultats pour les données combinées de deux lots sont présentés ci-dessous :

Échantillon	n	Conc. moyenne (ng/mL)	Au sein du laboratoire (Reproductibilité)	
			Écart-type	CV%
1	150	8,96	1,21	13,5%
2	150	67,85	4,31	6,4%
3	150	177,92	14,14	7,9%
4	150	377,41	32,10	8,5
5	150	460,17	46,83	10,2%
6	150	614,18	75,43	12,3%

14.4. Linéarité

La linéarité a été évalué selon la norme CLSI EP-06, " Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Pour la concentration de testostérone libre par Ferritin ELISA, la procédure de mesure montre une linéarité pour l'intervalle de 2.5 to 849 ng/mL dans la déviation admissible de linéarité (ADL) de $\pm 15\%$.

14.5. Comparaison de méthode

Le test Ferritin ELISA a été comparé à un test ELISA manuel quantitatif disponible dans le commerce, conformément à la norme CLSI EP-9A, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Un total de 100 échantillons, sélectionnés pour représenter une large gamme de concentrations de ferritine [15,65 à 782 ng/mL], ont été analysé par chaque méthode. Une analyse de régression Passing-Bablok a été effectuée sur les données comparatives :

n	Slope [95% CI]	Interception (ng/mL) [95% CI]	Coefficient de corrélation (r)
100	0,96 [0,92 à 1.01]	0,24 [-5,46 à 3,07]	0,96

14.6. Interférences

Les substances suivantes n'interfèrent pas avec un biais de $> \pm 15\%$ dans le test Ferritin ELISA lorsque les concentrations sont inférieures au seuil indiqué présenté dans le tableau suivant.

Réactif potentiellement interférent	Concentration seuil
Bilirubine, conjuguée	15 mg/dL
Bilirubine, non conjuguée	15 mg/dL
Hémoglobine	1000 mg/dL
Protéines totales	10 g/dL
Triglycérides	3000 mg/dL

14.7. Étude sérum-plasma

L'étude de comparaison de matrice Ferritin ELISA a été réalisée pour évaluer la différence entre les types de tubes (tubes séparateurs de sérum (SST), plasma à l'héparine de lithium, plasma à l'héparine de sodium et plasma à l'EDTA K2) par rapport aux échantillons de contrôle (sérum supérieur rouge, sans additif) conformément aux directives CLSI EP9-A3. Un total de 20 échantillons couvrant la gamme de dosage a été évalué. Une analyse de régression Passing-Bablok a été effectuée sur les données comparatives :

Type d'échantillon	Slope [95% CI]	Intercepter (pg/mL) [95% CI]	Coefficient de corrélation (r)
SST	1,02 [0,99 to 1,25,	-1,02 [-4,98 – 0,28]	1,00
Héparine de lithium	1,04 [0,95 – 1,09]	-1,61 [-3,33 – 0,42]	1,00
Héparine de sodium	1,07 [0,98 – 1,21]	-1,92 [-4,51 – -0,22]	1,00
EDTA	0,97 [0,88 – 1,06]	-1,02 [-3,24 – 0,66]	1,00

14.8. Effet « Hook »

Dans cette méthode, aucun effet Hook n'a été observé jusqu'à 10.000 ng/mL.

15. LIMITES DE LA TECHNIQUE

- Comme dans le cas de toute procédure de diagnostic, les résultats doivent être interprétés en conjonction avec la présentation clinique du patient et les autres informations dont dispose le médecin.
- Les caractéristiques de performance de ce test n'ont pas été établies dans une population pédiatrique.
- Les anticorps hétérophiles présents dans le sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines des réactifs, interférant avec les immunodosages in vitro¹³. Les patients exposés régulièrement à des animaux ou à des produits sériques animaux peuvent être sujets à cette interférence et des valeurs anormales peuvent être observées.

16. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- La procédure de dosage, l'information, les précautions et mises en garde de la notice d'utilisation, doivent être suivies de façon stricte. L'utilisation de ces kits avec des automates ou dispositifs similaires doit être validée. Aucun changement de la conception, composition et procédure de dosage, ainsi que l'utilisation avec d'autres produits non approuvés par le fabricant, ne sont autorisés ; seul l'utilisateur est responsable de tels changements. Le fabricant n'est pas responsable des faux résultats et des incidents dus à ces modifications. Le fabricant n'est pas responsable des résultats fournis par analyse visuelle des échantillons des patients.
- Uniquement pour diagnostic in vitro. Ne pas utiliser pour usage interne ou externe chez les Humains ou les Animaux.
- Les matières d'origine animale utilisées dans la préparation du kit ont été obtenues à partir d'animaux certifiés sains et la protéine bovine a été obtenue dans des pays non infectés par l'ESB, mais ces matières doivent être manipulées comme potentiellement infectieuses.
- Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoires (BPL) pour la manipulation de produits sanguins.
- Ne pas échanger les réactifs ou les bandes provenant de différents lots de production.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants avec les réactifs de ce kit.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Utiliser seulement des cônes de pipette, des distributeurs et du matériel de laboratoire propres.
- Ne pas échanger les bouchons des flacons, pour éviter la contamination croisée
- Fermer les flacons de réactifs immédiatement après l'utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- Après la première ouverture et le stockage ultérieur, vérifier la contamination microbienne des flacons de conjugué et de contrôle avant toute autre utilisation.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, introduire les échantillons de patients et le conjugué exactement au fond des puits en évitant les éclaboussures.
- Les échantillons contaminés microbiologiquement, hautement lipémiques, ictériques ou hémolysés ne doivent pas être utilisés dans le dosage.
- Les lecteurs de plaques mesurent verticalement. Ne pas toucher le fond des puits.
- Si le liquide n'est pas complètement extrait des puits, cela peut influencer la précision du dosage et/ou augmenter le bruit de fond. Pour améliorer la performance du kit sur les systèmes automatiques ELISA, on recommande d'augmenter le nombre de se lave.
- Certains réactifs (étalons, contrôle, conjugué et solution de lavage) contiennent de petites quantités de CMIT/MIT comme conservateur. Éviter tout contact avec peau et les muqueuses.
- Le substrat TMB contient un irritant qui peut être nocif s'il est inhalé, ingéré ou absorbé par la peau. Pour éviter toute blessure, éviter l'inhalation, l'ingestion ou le contact avec la peau et les yeux.
- La solution stop est une solution d'acide sulfurique diluée. L'aide sulfurique est un poison corrosif et peut être toxique s'il est ingéré. Éviter tout contact avec la peau ou les yeux pour prévenir des brûlures chimiques.
- L'addition de la solution de substrat initie la réaction cinétique qui se termine par l'ajout de solution stop. Par conséquent, l'addition de solution de substrat et de solution stop doit être fait durant la manipulation pour éliminer tous risques de dépassement de la durée de réaction.

16.1. Note de sécurité pour les réactifs contenant des substances dangereuses

Les réactifs peuvent contenir du CMIT/MIT (3:1) (voir chapitre 4.1)

Par conséquent, les mentions de danger et les conseils de prudence suivants s'appliquent.

Attention



H317	Peut provoquer une allergie cutanée.
P261	Éviter de respirer les gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
P280	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
P302+P352	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau.
P333+P313	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: Consulter un médecin.
P362+P364	Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

De plus amples informations peuvent être trouvées dans la fiche de données de sécurité.

16.2. Elimination des déchets

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchet est réglementée par des lois et réglementations nationales et régionales. Contacter les autorités compétentes ou les sociétés de gestion des déchets pour obtenir des renseignements sur l'élimination des déchets dangereux.

Pour plus d'informations sur les matériaux d'emballage, reportez-vous à la section MATÉRIELS D'EMBALLAGE.

17. INFORMATION POUR LES COMMANDES

REF

DNOV100

Ferritin

(96 Déterminations)

ESPAÑOL

1. INTRODUCCIÓN

La ferritina es una proteína presente principalmente en el citoplasma, pero que también se encuentra en el suero y el plasma como proteína transportadora de hierro. Contiene, almacena y libera el hierro de forma controlada. Una molécula de ferritina es capaz de unir entre 4000 y 5000 átomos de hierro, lo que convierte a la ferritina en la principal proteína de almacenamiento de hierro del organismo^{1,2}.

El hierro es un micronutriente esencial, ya que es necesario para una adecuada función eritropoyética, el mecanismo oxidativo y la respuesta inmunitaria celular^{1,2,3}. En óptimas condiciones fisiológicas, existe un equilibrio entre la absorción, el transporte y el almacenamiento de hierro en el cuerpo humano. Cuando este equilibrio se interrumpe, pueden presentarse dos condiciones principales: la deficiencia de hierro y la sobrecarga de hierro^{1,2,4}. En los seres humanos, la ferritina actúa como un amortiguador contra la deficiencia y la sobrecarga de hierro.

La deficiencia de hierro es el trastorno nutricional más común y extendido en el mundo, que afecta a 2000 millones de personas y, en particular, a niños, a mujeres en edad fértil con flujo menstrual abundante y abortos, y a mujeres premenopáusicas. La OMS estima que el 30 % de las mujeres no embarazadas y el 42 % de las embarazadas se ven afectadas por la deficiencia de hierro y la anemia⁵⁻¹⁰.

Dado que la concentración de ferritina es directamente proporcional al almacenamiento total de hierro en el organismo, las concentraciones de ferritina en suero se consideran una herramienta de diagnóstico habitual para el diagnóstico de las enfermedades que afectan al metabolismo del hierro¹.

2. USO PREVISTO

Ferritin ELISA es un dispositivo manual de diagnóstico *in vitro* destinado a la determinación cuantitativa de la ferritina en suero o plasma humano de una población adulta. Los resultados deben utilizarse como ayuda en el diagnóstico de enfermedades que afectan al metabolismo del hierro junto con otros datos clínicos y de laboratorio.

3. FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El ensayo de la ferritina se basa en la unión simultánea de la ferritina humana a dos anticuerpos monoclonales; uno está inmovilizado en la microplaca y el otro es soluble y está conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP). Los pocillos de las tiras de microplacas están precubiertos con anticuerpos anti-Ferritina. La ferritina de las muestras y los estándares se une a los anticuerpos inmovilizados en la superficie de los pocillos del microtitulador y el segundo anticuerpo antiferritina soluble conjugado con HRP se une al complejo anticuerpo-ferritina inmóvil durante la primera incubación. Después se realiza una separación ligada/libre mediante un lavado en fase sólida. El complejo inmunitario se visualiza añadiendo el sustrato de tetrametilbencidina (TMB), desarrolla un color azul que cambia a amarillo cuando se añade la solución de parada (H₂SO₄). La intensidad de este producto es proporcional a la cantidad de Ferritina en las muestras y los estándares. La absorción a 450 nm se lee mediante un Lector de Microplaca para ELISA. La concentración de ferritina en la muestra se calcula mediante una curva de calibración.

4. MATERIALES

4.1. Reactivos suministrados

- **Placas de Microtitulación:** 12 tiras de 8 pozos separables. Los pozos están recubiertas con anticuerpos anti-ferritina y vienen empacados en una bolsa de papel de aluminio resellable.
- **Solución de parada:** 1 vial con 15 mL de ácido sulfúrico; < 5 % (w/v); (evite cualquier contacto con la piel).
- **Conjugado:** 1 vial con 21 mL de anticuerpos anti-Ferritina marcados con peroxidasa de rábano (HRP); < 0,06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Solución de sustrato TMB:** 1 vial con 15 mL de 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina (H₂O₂-TMB 0,26 g/L) (evite cualquier contacto con la piel); < 0,0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Solución de lavado concentrada (10x):** 1 vial con 50 mL tampón fosfato 0.2 M, pH 7,4; < 0,06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Control:** 1 vial con 1 mL de un lote específico, listo para su uso. La concentración está en la etiqueta del frasco; < 0,06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Estándares:** 6 botellas, 3 mL en el estándar 0, 1 mL en cada uno de los demás estándares. Los calibradores están listos para su uso; < 0,06 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Estándar 0:	0	ng/mL
Estándar 1:	5	ng/mL
Estándar 2:	20	ng/mL
Estándar 3:	100	ng/mL
Estándar 4:	400	ng/mL
Estándar 5:	800	ng/mL

Para indicaciones de peligro y consejos de prudencia consulte el cap. 16.1

4.2. Materiales suministrados

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 instrucciones de uso

4.3. Materiales y equipos necesarios

- Lector de de ELISA equipado para medir absorbancia a 450 nm, 620-630 nm
- Equipo manual o automático para el lavado de los pozos
- Dispositivos de pipetas de precisión
- Pipetas para agregar volúmenes de entre 10 y 1000 µL
- Mezclador de rotación
- Agua destilada
- Tubos desechables
- Temporizador

5. ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette s'ils sont conservés à 2...8 °C. Une fois ouvert, le kit est stable pendant 5 mois (pas au-delà de la date d'expiration indiquée sur l'étiquette) s'il est conservé à 2...8 °C.

6. PREPARACION DE LOS REACTIVOS

¡Es muy importante que todos los reactivos, muestras y estándares se encuentren a temperatura ambiente (22...28 °C) durante al menos 30 minutos antes de iniciar la ejecución de la prueba! ¡Al final del ensayo inmediatamente poner todos los reactivos a 2...8 °C para evitar largos periodos a temperatura ambiente !

6.1. Tiras recubiertas rompibles

Las tiras desmontables para ser usadas están recubiertas con anticuerpos anti-Ferritina Almacenar a 2...8 °C. Inmediatamente después de retirar las tiras, las tiras restantes deben volver a sellarse en el papel de aluminio junto con el desecante suministrado y almacenarse a 2...8 °C; estabilidad hasta la fecha de caducidad. Una vez abiertas, las tiras son estables durante 5 meses (no más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta).

6.2. Conjugado

El conjugado está listo para su uso. Mezclar suavemente durante 5 minutos con un mezclador de rodillos.

6.3. Estándares

Los estándares vienen listos para ser usados y después de abiertos son estables por 5 meses a 2...8 °C.

6.4. Solución de sustrato TMB

El frasco contiene 15 mL de un sistema de tetrametilbencidina/peróxido de hidrógeno. El reactivo viene listo para ser usado y debe ser almacenado a 2...8 °C en oscuridad. *La solución debe estar incolora o puede tener un ligero tinte azul. Si el sustrato se torna azul, esto indica que puede haberse contaminado y por lo tanto debe desecharse.*

6.5. Solución de parada

El frasco contiene una solución de ácido sulfúrico (H314). Esta solución viene lista para ser usada.

6.6. Solución de lavado

Diluir la solución de lavado concentrada con agua destilada para alcanzar un volumen final de 500 mL antes de emplearla. Para volúmenes más pequeños, asegúrese de respetar una relación de 1:10. La solución de lavado diluida es estable durante 30 días si se almacena a 2...8 °C. 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.

6.7. Control

La botella contiene 1 mL de un lote específico. Solución lista para usar.

7. RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El ensayo debe realizarse usando muestras de suero (tubos de muestras estándar o tubos que contienen gel de separación de suero) o plasma (heparina de litio, heparina de sodio o EDTA de potasio). Las muestras pueden almacenarse de 2...8 °C por un tiempo corto (máximo tres días). Para un almacenamiento superior de las muestras debe ser almacenadas en alícuotas y congeladas (-20 °C). Si las muestras se almacenan congeladas, mezclar bien las muestras descongeladas antes de la prueba. Evite congelar y descongelar repetidamente (máximo 3 ciclos).

Almacenar la muestra a -20 °C si la determinación no se lleva a cabo el mismo día que se recoge la muestra. Antes de utilizar, mezclar suavemente durante 5 minutos con un mezclador de rodillos.

7.1. Precauciones

- Evitar la exposición del sustrato TMB a la luz solar directa, metal u oxidantes. No congelar la solución.
- La máxima precisión es necesaria para la dilución y la dispensación de los reactivos.

8. PROCEDIMIENTOS

8.1. Preparación para la prueba

Por favor, lea detenidamente las instrucciones de uso de la prueba **antes** de realizar el ensayo. La confiabilidad de los resultados depende del seguimiento estricto de las instrucciones de uso de la prueba tal cual se describe en el inserto. Antes de comenzar el ensayo, se debe establecer cuidadosamente la distribución e identificación de las muestras y los estándares. Seleccione el número necesario de tiras de microtitulación o pozos e insértelos en el soporte. El pipeteo de muestras no debe tomar más de diez minutos para evitar la deriva del análisis. Si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta para cada placa. Por favor, destinar al menos el:

1 pozo (por ejemplo, A1)	para el blanco
2 pozos (por ejemplo, B1+C1)	para el estándar 0
2 pozos (por ejemplo, D1+E1)	para el estándar 1
2 pozos (por ejemplo, F1+G1)	para el estándar 2
2 pozos (por ejemplo, H1+A2)	para el estándar 3
2 pozos (por ejemplo, B2+C2)	para el estándar 4
2 pozos (por ejemplo, D2+E2)	para el estándar 5
2 pozos (por ejemplo, F2+G2)	para el Control

Se recomienda determinar los estándares y muestras de los pacientes por duplicado.

Realice todos los pasos del ensayo en el orden indicado y sin retrasos apreciables entre los pasos.

Debe usar una punta desechable limpia para la dosificación de cada estándar y cada muestra.

1. Agregue 10 µl de estándares y muestras en sus respectivos pozos. Agregue 200 µl de conjugado a cada pozo excepto al pozo destinado para el blanco. Deje el pozo A1 libre para el blanco del sustrato.
2. Cubra los pozos con la lámina autoadhesiva incluida en el kit.
3. **Incube durante 1 hora a temperatura ambiente (22...28 °C).**
4. Cuando se complete el tiempo de incubación, retire la lámina autoadhesiva, aspire el contenido de los pozos y lave cada pozo tres veces con 300 µL de solución de lavado diluida. Evite desbordamientos entre los pozos de reacción.

Nota importante: 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.

Lavados automático: Si está utilizando una lavadora automática, hacer 5 lavados.

Nota: ¡El lavado es crítico! Un lavado insuficiente resulta en una mala precisión y valores de absorbancia falsamente elevados.

5. Agregue 100 µL de solución de sustrato TMB en todos los pozos.
6. **Incube exactamente durante 15 minutos a temperatura ambiente (22...28 °C) en oscuridad.**
7. Agregue 100 µL de solución de parada en todos los pozos en el mismo orden y a la misma velocidad a la que agregó la solución de sustrato TMB. Mezcle suavemente la microplaca.
Cualquier color azul desarrollado durante la incubación se convertirá en amarillo.
8. Mida la absorbancia de la muestra a 450 nm frente a una segunda lectura de referencia a 620-630 nm o frente al blanco entre 5 minutos.

8.2. Lectura

Ajuste el lector de placas de micropozos de ELISA a **cero** usando el **blanco de sustrato del pocillo A1**.

¡Si por razones técnicas el lector de ELISA no se puede ajustar a cero con el blanco del sustrato en el pozo A1, restar el valor de la absorbancia del pocillo A1 a todos los valores de las medidas de las absorbancias con el fin de obtener resultados fiables!

Mida la absorbancia de todos los pozos a **450 nm** y registre los valores de absorbancia para cada una de los estándares y muestras.

Cuando sea necesario, calcule la **absorbancia media** de los duplicados.

9. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Hay disponibles diversos paquetes de software de reducción de datos que se pueden utilizar para generar el promedio de la curva de calibración y para calcular el promedio de las concentraciones de muestras y controles desconocidos. Se recomienda un ajuste de curva logístico de 4 parámetros (4PL) o de splines cúbicos, **incluido el estándar 0**.

También se puede preparar una curva de calibración en papel semilogarítmico mediante el trazado de la absorbancia media en el eje Y frente a la concentración de analitos en el eje X. El estándar 0 debe incluirse en la curva de calibración. Lea el valor de absorbancia medio de cada muestra desconocida que se encuentra fuera de la curva.

Para que los resultados del ensayo se consideren válidos, los calibradores y el control del kit deben ajustarse a las especificaciones detalladas en el certificado de análisis específico del lote.

Si un control está fuera de su rango especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y se deben volver a realizar pruebas de las muestras.

10. CONTROL DE CALIDAD

Las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) requieren el uso de muestras de control de calidad en cada serie de ensayos para comprobar el rendimiento del ensayo. Los controles deberán tratarse como muestras desconocidas y los resultados deberán analizarse con métodos estadísticos adecuados.

El kit de control incluido en el kit deberá ser probado como desconocido y está destinado a ayudar a evaluar la validez de los resultados obtenidos con cada placa de ensayo.

Recomendamos que los usuarios mantengan registros gráficos de los valores de control que se generan con cada ensayo, incluida la media de ejecución, la DE (desviación estándar) y el % CV. Esta información facilitará los ensayos de tendencia de los controles relacionados con el rendimiento de lotes de control actuales e históricos relativos a los datos de control de calidad proporcionados. La tendencia facilitará la identificación de los análisis que generan valores de control significativamente distintos de su intervalo medio.

Al interpretar los datos de control, los usuarios deberán tener en cuenta que este producto fue diseñado y desarrollado como un producto manual. El rango establecido en el *Certificate of Analysis (CoA)* deberá ser adecuado para los ensayos que se realizan manualmente y en estricto cumplimiento del procedimiento de ensayo anteriormente descrito. Los profesionales del control de la calidad reconocen que, como resultado de las diferencias en las condiciones y en las prácticas, siempre habrá variaciones entre laboratorios en los valores medios y en la precisión de las mediciones de control¹².

11. INTERVALO DE MEDICIÓN

El rango de medición del ensayo (AMR - assay measuring range) es de 2,84-800 ng/mL.

Cualquier valor que sea inferior a 2,84 ng/mL debe informarse como «< 2,84 ng/mL». Cualquier valor que sea superior a 800 ng/mL debe informarse como «> 800 ng/mL».

12. METROLOGÍA Y TRAZABILIDAD

El ensayo Ferritin ELISA ha sido estandarizado con respecto a los estándares de referencia internos (matriz de suero), cuyo valor ha sido asignado a otro método de prueba disponible en el mercado.

13. VALORES ESPERADOS

Los rangos siguientes se determinaron usando el ensayo Ferritin ELISA y se facilitan solo con fines informativos. El intervalo de referencia del 95 % para adultos aparentemente sanos se calcularon mediante un método no paramétrico siguiendo la orientación de CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

		n°	Mediana (ng/mL)	Intervalo de referencia (ng/mL)
Mujeres	Premenopáusicas	42	33,5	8,4– 156,9
	Postmenopáusicas	42	44,8	16,8 – 180,8
Hombres		84	122,5	21,7 – 276,4

Los rangos anteriores deberán ser considerados como directrices solamente; se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango previsto en función de su propia población de pacientes.

14. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Los resultados están basados en lo grupo de pruebas investigado; no se trata de especificaciones garantizadas.

14.1. Capacidad de detección

El límite de blanco (LoB), el límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LoQ) se determinaron con orientación del documento CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation", usando 6 blancos y 6 muestras de bajo nivel.

Sensibilidad	Concentración
Límite de blanco (LoB)	0,35 ng/mL
Límite de detección (LoD)	2,00 ng/mL
Límite de cuantificación (LoQ)	2,84 ng/mL

14.2. Veracidad

Se ha demostrado la veracidad mediante la comparación del método Ferritin ELISA con un ensayo disponible en el mercado que utiliza muestras de donantes nativos; consulte la sección 14.5.

14.3. Precisión

La precisión de Ferritin ELISA se determinó mediante la realización de un estudio de precisión complejo.

Repetibilidad

Se analizaron un total de 6 muestras de suero en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores. A continuación se muestran los datos de un lote representativo:

Muestra	n	Medio conc. (ng/mL)	Intraprueba (repetibilidad)	
			DE	CV%
1	75	9,21	1,23	13,3%
2	75	68,30	2,47	3,6%
3	75	178,38	9,44	5,3%
4	75	380,97	26,54	7,0%
5	75	467,72	25,58	5,5%
6	75	619,17	51,33	8,3%

Reproducibilidad

Se analizaron un total de 6 muestras de suero en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores. A continuación se muestran los resultados de los datos combinados de dos lotes:

Muestra	n	Medio Conc. (ng/mL)	Dentro del laboratorio (Reproducibilidad)	
			DE	CV%
1	150	8,96	1,21	13,5%
2	150	67,85	4,31	6,4%
3	150	177,92	14,14	7,9%
4	150	377,41	32,10	8,5
5	150	460,17	46,83	10,2%
6	150	614,18	75,43	12,3%

14.4. Linealidad

La linealidad se evaluó en base a CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Para la concentración de ferritina mediante Ferritin ELISA, el procedimiento de medición muestra linealidad para el intervalo de 2,5 a 849 ng/mL dentro de la desviación de linealidad permitida (ADL) de $\pm 15\%$.

14.5. Comparación de Métodos

El ensayo Ferritin ELISA se comparó con un ensayo automatizado cuantitativo de ferritina disponible comercialmente, siguiendo CLSI EP-9A, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Se analizaron un total de 100 muestras, seleccionadas para representar un amplio rango de concentraciones de ferritina [15,65 a 782 ng/mL] usando cada uno de los métodos. Se realizó el análisis de regresión de Passing y Bablok en los datos comparativos:

n	Pendiente [IC del 95%]	Intersección (ng/mL) [IC del 95%]	Coefficiente de correlación (r)
100	0,96 [0,92 a 1,01]	0,24 [-5,46 to 3,07]	0,96

14.6. Interferencias

Las siguientes sustancias no interfieren con un sesgo de $> \pm 15\%$ en la Ferritin ELISA cuando las concentraciones están por debajo del umbral indicado presentado en la siguiente tabla.

Reactivos que pueden interferir	Límite máximo de concentración
Bilirrubina, conjugada	15 mg/dL
Bilirrubina, no conjugada	15 mg/dL
Hemoglobina	1000 mg/dL
Proteína total	10 g/dL
Triglicéridos	3000 mg/dL

14.7. Estudio en Suero-plasma

El estudio de comparación de la matriz de Ferritin ELISA se realizó para evaluar la diferencia entre los tipos de tubos (tubos separadores de suero [SST], plasma de heparina de litio, plasma de heparina sódica y plasma K2 EDTA) frente a las muestras de control (tapón rojo para suero, sin aditivos) siguiendo las directrices de CLSI EP9-A3. Se evaluó un total de 20 muestras para cubrir el intervalo del ensayo. Se realizó el análisis de regresión de Passing y Bablok en los datos comparativos:

Tipo de muestra	Pendiente [IC del 95%]	Intersección (ng/mL) [IC del 95 %]	Coefficiente de correlación (r)
SST	1,02 [0,99 to 1,25]	-1,02 [-4,98 – 0,28]	1,00
Heparina de litio	1,04 [0,95 – 1,09]	-1,61 [-3,33 – 0,42]	1,00
Heparina sódica	1,07 [0,98 – 1,21]	-1,92 [-4,51 – -0,22]	1,00
EDTA	0,97 [0,88 – 1,06]	-1,02 [-3,24 – 0,66]	1,00

14.8. Efectos gancho

La Ferritin ELISA, es un inmunoensayo enzimático competitivo que no muestra ningún efecto gancho hasta 10.000 ng/mL.

15. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Como en cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados se deberán interpretar junto con los hallazgos clínicos del paciente y otra información de la que el médico disponga.
- Las características de rendimiento de este análisis no se han establecido para una población pediátrica.
- Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar ante las inmunoglobulinas reactivas, que interfieren con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes que se exponen habitualmente a animales o a productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y puede que se observen valores anómalos.

16. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- El procedimiento de prueba, la información, precauciones y advertencias contenidas en las instrucciones de uso deben ser seguidas estrictamente. El uso de los kits con analizadores y equipos similares debe ser validado. No está autorizado realizar ningún cambio en el diseño, composición y procedimiento del ensayo, así como ningún uso en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario es responsable de tales cambios. El fabricante no se hace responsable por resultados falsos o por cualquier incidente causado por esta razón. El fabricante no se responsabiliza por los resultados obtenidos mediante el análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Sólo para uso en diagnóstico in vitro y por personal experto. No es para uso interno o externo en humanos o animales.
- Materiales de origen animal utilizadas para la elaboración de este kit se obtuvieron a partir de animales sanos y de las proteínas de bovino se obtuvieron de los países no afectados por la EEB, pero estos materiales se deben utilizar como potencialmente infecciosos.
- Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) en el manejo de las muestras sanguíneas y sus derivados.
- No intercambiar reactivos o tiras de diferentes lotes de producción.
- No se deben utilizar reactivos de otros fabricantes en combinación con los reactivos de este kit.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Use sólo puntas para micropipeta, dispensadores y material de laboratorio limpio.
- No intercambie las tapas de los viales. Esto evita la contaminación cruzada.
- Cierre los viales de los reactivos con fuerza inmediatamente después de usarlos para evitar la evaporación y contaminación microbiana.
- Después de abrir el kit por primera vez y almacenarlo, verifique que los viales del conjugado y los estándares no presenten contaminación microbiana antes de continuar usándolo.
- Para prevenir la contaminación cruzada y la obtención de resultados falsamente elevados, pipeteo las muestras de los pacientes y dispense el conjugado con precisión hacia el fondo de los pozos evitando que se produzcan salpicaduras.
- No se deben usar en el ensayo muestras contaminadas microbiológicamente, muy lipémicas, ictericas o hemolizadas.
- Los lectores de microplaca leen las DO verticalmente, por tanto no debe tocarse el fondo de los pocillos.
- 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 de ELISA, se recomienda aumentar el número de lavados.
- Algunos reactivos (estándares, control, conjugado y solución de lavado) contienen pequeñas cantidades de CMIT/MIT como conservante. Evitar el contacto con la piel o las mucosas.
- El sustrato TMB contiene un irritante que puede ser perjudicial si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para prevenir lesiones, evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y 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.
- Al añadir el sustrato TMB se inicia una reacción cinética que termina al agregar la solución de parada. Por lo tanto, el sustrato de TMB y la solución de parada deben añadirse en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.

16.1. Nota de seguridad para los reactivos que contienen sustancias peligrosas

Los reactivos pueden contener CMIT/MIT (3:1) (consulte el cap 4.1)

Por lo tanto, se aplican las indicaciones de peligro y consejos de prudencia.

Atención



H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
P261	Evitar respirar el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P302+P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua.
P333+P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
P362+P364	Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Se puede encontrar más información en la ficha de datos de seguridad.

16.2. Consideraciones para El Descarte

Los residuos de productos y preparaciones químicos generalmente son considerados como residuos peligrosos. La eliminación de éste tipo de residuos está regulada por leyes y regulaciones nacionales y regionales. Póngase en contacto con las autoridades locales o empresas de manejo de residuos para que lo asesoren sobre cómo eliminar los residuos peligrosos.

Para obtener información sobre los materiales de embalaje, consulte MATERIALES DE EMBALAJE.

17. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

REF	DNOV100	Ferritin	(96 Determinaciones)
------------	---------	----------	----------------------


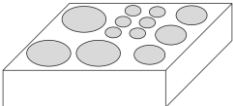




BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFÍA

1. Muñoz M, García-Erce JA, Remacha ÁF. Disorders of iron metabolism. Part II:iron deficiency and iron overload. *J Clin Pathol*. 2011 Apr;64(4):287-96.
2. Moyer TP, Highsmith WE, Smyrk TC, Gross JB Jr. Hereditary hemochromatosis: laboratory evaluation. *Clin Chim Acta*. 2011 Aug 17;412(17-18):1485-92.
3. Crownover BK, Covey CJ. Hereditary hemochromatosis. *Am Fam Physician*. 2013 Feb 1;87(3):183-90.
4. Daru J, Colman K, Stanworth SJ, De La Salle B, Wood EM, Pasricha SR. Serum ferritin as an indicator of iron status: what do we need to know? *Am J Clin Nutr*. 2017 Dec;106(Suppl 6):1634S-1639S.
5. Peyrin-Biroulet L, Williet N, Cacoub P. Guidelines on the diagnosis and treatment of iron deficiency across indications: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2015 Dec;102(6):1585-94.
7. De Franceschi L, Iolascon A, Taher A, Cappellini MD. Clinical management of iron deficiency anemia in adults: Systemic review on advances in diagnosis and treatment. *Eur J Intern Med*. 2017 Jul;42:16-23.
8. Cappellini MD, Musallam KM, Taher AT. Iron deficiency anaemia revisited. *J Intern Med*. 2020 Feb;287(2):153-170.
9. Friedman AJ, Shander A, Martin SR, Calabrese RK, Ashton ME, Lew I, Seid MH, Goodnough LT. Iron deficiency anemia in women: a practical guide to detection, diagnosis, and treatment. *Obstet Gynecol Surv*. 2015 May;70(5):342-53.
10. Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, Peyrin-Biroulet L. Iron deficiency anaemia. *Lancet*. 2016 Feb 27;387(10021):907-16.
11. Daru J, Allotey J, Peña-Rosas JP, Khan KS. Serum ferritin thresholds for the diagnosis of iron deficiency in pregnancy: a systematic review. *Transfus Med*. 2017 Jun;27(3):167-174.
12. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
13. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33







ABBREVIATIONS / ABREVIATIONS / ABREVIACIONES

CMIT	5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one
MIT	2-methyl-2H-isothiazol-3-one

PACKAGING MATERIALS / MATERIELS D'EMBALLAGE / MATERIALES DE EMBALAJE

 PAP 21	 PAP 21	 PAP 22	<table border="1"><tr><td>MTP</td></tr><tr><td> ALU / LDPE 90</td></tr></table>	MTP	 ALU / LDPE 90
MTP					
 ALU / LDPE 90					

SYMBOLS KEY / EXPLICATION DES SYMBOLES / SIMBOLOS

	Manufactured by / Fabriqué par / Fabricado por
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device / Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Producto para diagnóstico In vitro
LOT	Lot Number / Numéro de lot / Número de lote
	Expiration Date / Date de péremption / Fecha de caducidad
	Storage Temperature / Température de conservation / Temperatura de almacenamiento
	Keep away from sunlight / Protéger de rayonnement solaire / Mantener alejado de la luz solar
CE	CE Mark / Marquage CE / Marca CE
REF	Catalogue Number / Référence du catalogue / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Consulter la notice d'utilisation / Consulte las Instrucciones de Uso
MTP	Microtiterplate / Microplaque / Microplaca
CONJ	Conjugate / Conjugué / Conjugado
CONTROL	Control / Contrôle / Control
CAL	Calibrator or Standard / Callibrateur o Etalon / Calibrador o Estándar
SOLN STOP	Stop solution / Solution d'arrêt / Solución de parada
SUB TMB	TMB Substrate solution / Substrat TMB / Solución substrato TMB
WASH BUF 10x	Washing solution 10x concentrated / Solution de lavage concentré 10 x / Solución de lavado concentrado x10
	Contains sufficient for "n" tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente para "n" tests

SCHEME OF THE ASSAY

Ferritin

Test Preparation

Prepare reagents and samples as described.
 Establish the distribution and identification plan for all specimens and controls.
 Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Assay Procedure

	Substrate blank	Standard 0 - 5	Control	Sample
Standard 0 - 5	-	10 µL	-	-
Control	-	-	10 µL	-
Sample	-	-	-	10 µL
Conjugate	-	200 µL	200 µL	200 µL
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 1 h at room temperature Wash each well three times with 300 µL diluted wash solution In case you use automatic equipment, wash the wells at least 5 times.				
TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate for exactly 15 min at room temperature in the dark				
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Shake the microplate gently. Photometric measurement at 450 nm, 620-630 nm				



Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 6074 23698-0

Fax: +49 6074 23698-900

E-Mail: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com

Website: clinical.goldstandarddiagnostics.com