



KIT IRMA FERRITINA

REF 20 170125

Σ 125

ITALIANO



GARANZIA

Il fabbricante garantisce per il suo prodotto esclusivamente la sua capacità di misurare l'analita specificato, quando usato conformemente alle istruzioni scritte fornite dal fabbricante stesso. L'uso del kit diagnostico per qualunque altro scopo esula dall'impiego previsto per il prodotto ed avviene a rischio esclusivo dell'utilizzatore. Il fabbricante declina ogni tipo di garanzia implicita di commerciabilità, convenienza d'uso o utilità presunta a qualsiasi altro titolo. Qualsiasi indennizzo dovuto a un mancato funzionamento o errore del kit diagnostico usato conformemente alle istruzioni si limita al valore di sostituzione del kit. La sola responsabilità di Bioclone Australia Pty Limited e dei propri distributori si limita alla sostituzione del prodotto oppure al rimborso della spesa d'acquisto. Bioclone Australia Pty Limited non è responsabile per danni materiali, lesioni personali o perdite di natura economica causati dai suoi prodotti.

Prodotto da Bioclone Australia Pty Limited
(società affiliata a Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071
71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIA 2204
Tel +61 (0) 2 9517 1966 Fax +61 (0) 2 9517 2990 Numero verde 1800 251 138
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

EC REP Hitachi Chemical Diagnostics Inc.
Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

FINALITA' D'USO

Il kit IRMA Ferritina è stato sviluppato per la determinazione quantitativa diagnostica *in vitro* della Ferritina presente nel siero e nel plasma.

PRINCIPIO DEL KIT IRMA

L'IRMA è un sistema immunoradiometrico basato sulla tecnica del doppio anticorpo. L'antigene presente nel campione, come in un sandwich, si lega sia all'anticorpo marcato con il tracciante ¹²⁵I sia all'anticorpo legato a particelle di polistirene magnetizzate (fase solida). Dopo l'incubazione la risultante struttura a "sandwich" è fatta sedimentare, decantata e lavata al fine di rimuovere gli anticorpi marcati con ¹²⁵I non legati. Le provette contenenti il complesso sandwich sedimentato sono poi analizzate usando un contatore gamma. La concentrazione dell'analita è direttamente proporzionale alla radioattività rimasta legata nella struttura a sandwich. Si traccia il grafico dell'attività dei calibratori e da tale curva si desume la concentrazione dei campioni.

REATTIVI FORNITI, STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Composizione del kit 125 tests. Il kit e tutti i suoi componenti, nuovi o già avviati, devono essere conservati ad una temperatura compresa tra i 2-8°C sino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

Ferritina: Tracciante

1 flacone REF # FEI1
65 mL contenenti anti-Ferritina marcati con ¹²⁵I (≤17μCi) in tampone BSA PBS, siero animale non immune ed un colorante arancione. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Pronto all'uso.

Ferritina: Fase solida

1 flacone REF # FE1
65 mL contenenti anticorpi anti-Ferritina complessati con particelle di polistirene magnetizzabile in tampone BSA PBS e addizionato di un colorante blu. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Risospendere delicatamente prima dell'uso.

Soluzione di lavaggio concentrata

1 flacone REF # CGW1
10 mL di soluzione di lavaggio concentrata 15 volte. Contiene azide sodica, 1.5% p/v. Da diluire prima dell'uso.

Ferritina: Calibratori

9 flaconi REF # FES1-9
5.0 mL nel Calibratore 1 e 0.75 mL dei Calibratori 2-9, ciascuno in una soluzione al 5% di BSA PBS. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Pronti all'uso.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE PER L'USO

Manipolazione, impiego, conservazione e smaltimento dei campioni e dei componenti del kit devono avvenire in accordo con le linee guida e i regolamenti di sicurezza nazionali o locali.

Campioni e calibratori

I componenti costitutivi dei calibratori sono stati testati con metodi approvati ed accreditati al fine di stabilire la presenza di

antigeni di superficie per l'epatite B, anticorpi per l'epatite C ed anticorpi contro HIV-1/2 (AIDS) e sono risultati non reattivi a tutte le indagini sopra elencate. Si raccomanda comunque di manipolare tutti i campioni con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi.

Conservanti

Il kit contiene azide sodica come conservante. La presenza di un conservante potenzialmente tossico nei reattivi rende gli stessi potenzialmente tossici ed è pertanto consigliabile maneggiare i vari componenti del kit con attenzione, evitando l'ingestione o il contatto con la cute. L'azide sodica potrebbe reagire con le tubature in piombo o rame dei lavelli formando azoturi metallici potenzialmente esplosivi.

Materiale Radioattivo

Il tracciante contiene materiale radioattivo.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

I pazienti non richiedono una preparazione specifica. Si possono utilizzare campioni sia di siero che plasma, raccolti in modo appropriato per le analisi di laboratorio. E' preferibile l'utilizzo di siero ma anche anticoagulanti quali eparina o EDTA non alterano l'accuratezza dell'analisi.

Evitare i campioni visibilmente emolizzati, lipemici e torbidi. I campioni sono stabili a 2-8°C se processati entro 48 ore, per tempi più lunghi è consigliabile congelare i campioni a -20°C, evitando congelamenti e scongelamenti ripetuti. A scongelamento avvenuto i campioni vanno verificati per la presenza di tracce di impurità e mescolati per inversione immediatamente prima dell'uso. Campioni torbidi o flocculati vanno centrifugati prima di essere processati.

MATERIALE RICHIESTO MA NON COMPRESO NEL KIT

- * Acqua distillata o deionizzata
- * Pipette di precisione
- * Provette in plastica monouso 12 x 75 mm
- * Pipette a ripetizione
- * Contaminuti
- * Agitatore vortex
- * Bagno termostatico (37°C ± 2°C)
- * Portaprovette magnetici o centrifuga refrigerata 1500g
- * Carta assorbente
- * Contatore gamma

NOTE PROCEDURALI

Portare tutti i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolare dolcemente per inversione prima dell'uso. Non usare ancorrette magnetiche per risospendere il reagente della fase solida.

L'eventuale contaminazione dei reattivi potrebbe determinare una riduzione delle performance del metodo. Si raccomanda di operare in duplicato. La curva di calibrazione deve essere ripetuta ad ogni determinazione. I campioni per i quali si sospettano concentrazioni superiori al valore del calibratore più alto, devono essere

diluiti prima dell'analisi con il calibratore zero.

I vari passaggi della metodica devono essere eseguiti in successione evitando interruzioni. E' consigliabile non mescolare reattivi provenienti da lotti diversi. Il contatore gamma e le pipette devono essere opportunamente tarate prima dell'utilizzo.

Lavaggi

L'efficienza della fase di lavaggio è cruciale per garantire una buona precisione del metodo.

Controllo di Qualità

In ogni sessione analitica vanno inseriti campioni di controllo che devono risultare entro le specifiche fissate dal laboratorio per poter validare l'analisi.

PROCEDURA OPERATIVA

Preparazione dei Reagenti

Soluzione di lavaggio

Diluire 1 a 15 la soluzione di lavaggio concentrata con acqua deionizzata. La soluzione di lavaggio può essere conservata a temperatura ambiente (20-25°C) per 6 mesi.

Calibratori

Miscelare delicatamente i flaconi per inversione. L'esatta concentrazione dei calibratori è riportata sull'etichetta di ciascun flacone. I calibratori vanno conservati a 2-8 °C.

Protocollo operativo

1. Allestire ed etichettare in doppio le provette necessarie in base al numero di test da eseguire (campioni, controlli, calibratori e attività totale).
 2. Pipettare 50 μL di campione (calibratore, controllo) in doppio nelle rispettive provette.
 3. Pipettare 500 μL di Tracciante per la Ferritina (giallo) in tutte le provette. Mettere da parte le provette dell'attività totale.
 4. Mescolare cautamente le provette su vortex ed incubare per 10 minuti a temperatura ambiente (20-25°C).
- N.B. non incubare per un tempo superiore ai 10 minuti.**
5. Risospendere la Fase Solida della Ferritina (blu-verde) per miscelazione e capovolgere il contenuto del flacone evitando che rimangano sedimenti sul fondo; non agitare vigorosamente questo reattivo.
 6. Pipettare 500 μL di anti-Ferritina Fase Solida (blu-verde) in tutte le provette ad eccezione di quelle dell'attività totale (TC).
 7. Mescolare le provette su vortex con cautela ed incubare per 1 ora a 37°C.
 8. La separazione della struttura a sandwich dagli anticorpi marcati, non legati, può essere ottenuta sia mediante separazione magnetica che centrifugazione.

- A. *Separazione magnetica* tare su piattaforma magnetica, decantare e lasciar scolare su carta assorbente come precedentemente indicato.
- a) Posizionare le provette nei rack di separazione magnetica ed assicurarsi che tutte le provette siano in contatto con la piastra magnetica, per almeno 15 minuti. La precisione può essere migliorata portando il tempo di sedimentazione a 20 minuti.
- b) Dopo la separazione non rimuovere i rack dalla piastra magnetica. Rovesciare il rack decantando il supernatante e mantenere capovolta la piastra magnetica lasciando scolare le provette sulla carta assorbente per 2 minuti.
- c) Rimuovere i rack dalla loro piastra magnetica. Lavare le provette con 500 µL di soluzione di lavaggio. Agitare su vortex, sedimen-
- Oppure
- B. *Centrifugazione*
- a) Centrifugare tutte le provette per 5 minuti a 1500 x g in una centrifuga refrigerata (4°C). Decantare il supernatante e lasciar scolare le provette sulla carta assorbente per 2 minuti.
- b) Lavare le provette aggiungendo 500 µL di soluzione di lavaggio. Agitare su vortex, centrifugare, decantare ed asciugare come sopra.
9. Contare la radioattività per la durata di un minuto in contatore gamma. Registrare i colpi per minuto (cpm) per ciascuna provetta.
10. Calcolare i risultati.

CALCOLO DEI RISULTATI

In assenza di elaborazione automatica dei risultati il calcolo può essere effettuato a mano.

- Determinare l'attività media (cpm) per ogni coppia di provette in duplicato.
- Tracciare la curva di calibrazione su carta semilogaritmica usando uno dei metodi sotto riportati.

Metodo 1

Usare la seguente formula per calcolare la "percentuale di attività legata sull'attività totale" (%B/T):

$$\%B/T = \frac{\text{cpm(campione)}}{\text{cpm(attività totale)}} \times 100$$

Graficare %B/T sull'asse y, contro le concentrazioni assegnate ai calibratori sull'asse x.

Metodo 2

Riportare in grafico il valore di cpm sull'asse y, contro le concentrazioni assegnate ai calibratori sull'asse x.

- Leggere i valori dei campioni direttamente dalla curva di calibrazione esprimendoli in µg/L.

ESEMPIO DI CALCOLI

ID	cpm medie	%B/T	Ferritina µg/L
Attività totale	169235		
0	876	0.52	
2.5	1336	0.79	
5	1727	1.02	
10	2769	1.64	
50	9415	5.56	
100	17756	10.49	
250	32793	19.38	
500	45189	26.70	
1000	54026	31.92	
campione 1	10021	5.92	52.9

CALIBRAZIONE

I calibratori forniti nel kit sono espressi in µg/L e calibrati contro il riferimento internazionale 1^o IS Ferritin, Human Liver, for Immunoassay (80/602).

VALORI ATTESI

Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca i propri valori di riferimento su un campione rappresentativo della popolazione. Il range di riferimento che segue è stato ottenuto dall'analisi di campioni di siero provenienti da individui sani e viene fornito unicamente come guida: in assenza di infiammazione o danni a livello epatico, livelli superiori a 300 µg/L nei maschi e 200 µg/L nelle donne, indicano accumulo di ferro e richiedono ulteriori indagini per individuare la sede del disturbo.

Si parla di carenza quando i valori di ferritina scendono al di sotto dei 12 µg/L.

	µg/L
Maschio normale	19 - 300
Donna normale	9 - 100
premenopausa	
Postmenopausa	17 - 165
anemia da carenza di ferro	3 - 15
gravidanza	5 - 160
sovraccarico di ferro	300 - 1500

LIMITAZIONI

Campioni di siero che presentano un'evidente emolisi, un elevato grado di lipemia e torbidità potrebbero portare ad un'alterazione dei risultati.

Campioni che contengono un'apprezzabile dose di radioattività di fondo devono essere scartati. Misurare preliminarmente la radioattività di fondo nei campioni sospetti, ed in caso di positività posporre l'analisi finché sia decaduta, o ripetere il prelievo.

PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

Precisione entro la serie

Campione	n	media ± 2SD(µg/L)	% CV
A	20	71.30 ± 2.00	2.8
B	20	145.00 ± 4.10	2.8
C	20	277.50 ± 8.80	3.2

Precisione fra le serie

Campione	n*	media ± 2SD(µg/L)	% CV
A	20	75.1 ± 3.20	4.3
B	20	155.6 ± 7.7	4.9
C	20	289.1 ± 14.3	4.9

* in duplicato

Specificità

La crossreattività relativa degli anticorpi anti ferritina impiegati in questo kit è la seguente:

ferritina da fegato umano	100 %
ferritina da cuore umano	100 %
ferritina da milza umana	7.2 %

Accuratezza

Il recupero è stato calcolato dosando i valori prima e dopo l'aggiunta di un analita esogeno

Campioni	Ferritina (µg/L) Osservati	Ferritina (µg/L) attesi	recupero %
Siero X (50 µL)	638		
x (25 µL)+ 25 µL	0	322	319
	2.5	318	320
	5	340	321
	10	328	324
	50	351	344
	100	370	369
			101
			99
			106
			101
			102
			100

Diluizioni

Un campione è stato diluito con il calibratore zero, analizzato e se ne è calcolato il recupero.

Campione	Ferritina (µg/L) Osservati	Ferritina (µg/L) attesi	recupero %
Tal quale	718		
1/2	342	359	95
1/4	170	180	95
1/8	88	90	98
1/16	47	45	105

Effetto gancio ad alte dosi

Per le caratteristiche del test, che rendono possibile la presenza di effetto "gancio" (hook) alle dosi più alte, si possono determinare risultati aberranti in campioni con valori superiori a 50000 µg/L. Questi campioni devono essere diluiti con il calibratore zero e ritestati.

Sensibilità

La sensibilità del test è tipicamente < 0.5 µg/L.

La sensibilità è definita come quella concentrazione di analita che corrisponde a un segnale strumentale (cpm) il quale disti due deviazioni standard dalla media del segnale strumentale ottenuto misurando in tre diverse serie 10 replicati del calibratore zero.

Interferenze

Non è stata osservata interferenza col recupero analitico per concentrazioni di emoglobina fino a 250 mg/dL, bilirubina fino a 10 mg/dL, trigliceridi fino a 970 mg/dL.

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Il kit Ferritina IRMA è prodotto da :

Bioclone Australia Pty Limited
71-73 Railway Parade, Marrickville
NSW 2204 , AUSTRALIA
Telefono +61 (0) 2 9517 1966 numero verde 1800 251 138
Fax +61 (0) 2 9517 2990
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

ASSISTENZA TECNICA

Bioclone fornisce un completo servizio di assistenza tecnica al numero +61 (0) 2 9517 1966 o al numero verde 1800 251 138.

PART No.: KBFEI Ed.6 Data di Revisione 1 Giugno 2006