

Ferritina

REF	Σ	SYSTEM
03737551 190	100	Elecsys 2010 MODULAR ANALYTICS E170 cobas e 411 cobas e 601 cobas e 602

Italiano

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione quantitativa *in vitro* della ferritina nel siero e nel plasma umani.

L'esecuzione dell'ImmunoAssay in ElettroChemiLuminescenza "ECLIA" è destinata all'uso sugli immunoanalizzatori Elecsys e **cobas e**.

Sommario

La ferritina è una macromolecola con un peso molecolare di almeno 440 kDa (a seconda della concentrazione di ferro) ed è costituita da un involucro proteico (apoferritina) con 24 subunità e da un nucleo ferrico contenente in media ca. 2500 ioni Fe^{3+} (nella ferritina epatica e splenica).¹

La ferritina tende a formare oligomeri e, quando è presente in eccesso nelle cellule degli organi di deposito, a condensare in emosiderina semicristallina all'interno dei lisosomi.

È possibile distinguere tra almeno 20 isoferritine mediante focalizzazione isoelettrica.² Questa microeterogeneità è dovuta alla differente concentrazione delle subunità H acide e L leggermente basiche. Le isoferritine basiche, che svolgono la funzione di deposito del ferro a lunga durata, sono riscontrabili in prevalenza nel fegato, nella milza e nel midollo osseo.^{1,3}

Le isoferritine acide si trovano principalmente nel miocardio, nella placenta e nel tessuto tumorale. Hanno una concentrazione di ferro più bassa e probabilmente funzionano da intermediarie per il trasferimento del ferro in vari processi di sintesi.^{4,5,6}

La determinazione della ferritina è un metodo utile per diagnosticare lo stato del metabolismo di ferro. Il dosaggio della ferritina eseguito all'inizio della terapia fornisce una misura rappresentativa delle riserve di ferro nell'organismo. Uno scarso deposito nel sistema reticolo-endoteliale (SRE) può essere rilevato fin dai primissimi stadi.⁷

Un valore limite di 20 $\mu g/L$ (ng/mL) si è dimostrato clinicamente utile nel determinare la carenza di ferro prelatente. Questo valore fornisce un'indicazione affidabile dell'esaurimento delle riserve di ferro utilizzabili per la sintesi dell'emoglobina. Un valore di ferritina inferiore alla soglia di 12 $\mu g/L$ (ng/mL) indica una carenza di ferro latente. Questi due valori non necessitano di ulteriori indagini di laboratorio per essere confermati, anche quando il quadro ematologico è ancora morfologicamente normale. Se il livello di ferritina diminuito è associato ad un'anemia microcitica ipocromica, si è in presenza di una carenza di ferro manifesta.¹

Quando il livello di ferritina è elevato e si possono escludere con certezza eventuali problemi di distribuzione, si è in presenza di un sovraccarico di ferro nell'organismo. Il valore limite è stato fissato a 400 $\mu g/L$ (ng/mL) di ferritina. Valori di ferritina elevati sono riscontrabili anche in caso dei seguenti tumori: leucemia acuta, morbo di Hodgkin, carcinoma del polmone, del colon, del fegato e della prostata. La determinazione della ferritina è risultata preziosa nel caso di metastasi epatiche. Alcuni studi hanno dimostrato che nel 76 % dei pazienti affetti da metastasi epatiche i valori di ferritina sono superiori a 400 $\mu g/L$ (ng/mL). Le cause dei valori elevati possono essere necrosi cellulari, il blocco della eritropoiesi o un aumento della sintesi nel tessuto tumorale.

Per la formazione del complesso sandwich nel test vengono impiegati due anticorpi murini monoclonali: M-4.184 e M-3.170.

Principio del test

Principio sandwich. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: 10 μL di campione, un anticorpo monoclonale biotinilato specifico anti-ferritina e un anticorpo monoclonale specifico anti-ferritina marcato con un complesso di rutenio^{a)} formano un complesso sandwich.
- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di microparticelle rivestite di streptavidina, il complesso si lega alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.

- La miscela di reazione viene aspirata nella cella di misura dove le microparticelle vengono attratte magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Successivamente si eliminano le sostanze non legate impiegando ProCell/ProCell M. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione chemiluminescente che viene misurata mediante il fotomoltiplicatore.
- I risultati vengono calcolati in base ad una curva di calibrazione, che viene generata in modo specifico per lo strumento con una calibrazione a 2 punti e con una curva master fornita insieme al codice a barre del reattivo.

a) Complesso di rutenio (II) tris(2,2'-bipiridile) ($Ru(bpy)_3^{2+}$)

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

Il rack-pack reagenti è contrassegnato con FERR.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina (tappo trasparente), 1 flacone, 6.5 mL:
microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.
- R1 Anticorpi anti-ferritina-biotina (tappo grigio), 1 flacone, 10 mL:
anticorpo (murino) monoclonale biotinilato anti-ferritina 3.0 mg/L;
tampone fosfato 100 mmol/L, pH 7.2; conservante.
- R2 Anticorpi anti-ferritina- $Ru(bpy)_3^{2+}$ (tappo nero), 1 flacone, 10 mL:
anticorpo (murino) monoclonale anti-ferritina marcato con un complesso di rutenio 6.0 mg/L; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 7.2; conservante.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali. Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

I reattivi contenuti nella confezione formano un'unità inseparabile e sono pronti all'uso.

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto vengono lette nello strumento dai codici a barre dei rispettivi reattivi.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Non congelare.

Conservare la confezione di reattivi Elecsys **in posizione verticale** in modo da garantire la completa disponibilità delle microparticelle durante il mescolamento automatico prima dell'uso.

Stabilità:	
prima dell'apertura a 2-8 °C	fino alla data di scadenza indicata
dopo l'apertura a 2-8 °C	12 settimane
sugli analizzatori	6 settimane

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero, prelevato con provette standard da prelievo.

Plasma con litio/sodio eparina, K₃-EDTA e citrato di sodio.

Se si impiega il citrato di sodio, correggere i risultati del +10 %.

Valutazione: recupero 90-110 % del valore nel siero o slope 0.9-1.1 + intercetta < ±2 x limite di sensibilità analitica + coefficiente di correlazione > 0.95.

Stabilità: 7 giorni a 2-8 °C, 12 mesi a -20 °C.⁸

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Non impiegare campioni inattivati a caldo.

Non impiegare campioni e controlli stabilizzati con azide.

Assicurarsi che i campioni, i calibratori ed i controlli al momento della misura siano alla temperatura di 20-25 °C.

Per evitare un'eventuale evaporazione, analizzare/misurare i campioni, calibratori e controlli che si trovano sugli analizzatori entro 2 ore.

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 03737586190, Ferritin CalSet, 4 x 1 mL
- [REF] 11776452122, PreciControl Tumor Marker, per 2 x 3 mL ciascuno di PreciControl Tumor Marker 1 e 2, oppure [REF] 05618860190, PreciControl Varia, per 2 x 3 mL ciascuno di PreciControl Varia 1 e 2
- [REF] 11732277122, Diluent Universal, 2 x 16 mL di diluente, oppure [REF] 03183971122, Diluent Universal, 2 x 36 mL di diluente
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Analizzatore Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 o **cobas e**

Accessori per gli analizzatori Elecsys 2010 e **cobas e** 411:

- [REF] 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL di tampone del sistema
- [REF] 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL di soluzione di lavaggio per celle di misura
- [REF] 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL di additivo per l'acqua di lavaggio
- [REF] 11933159001, adapter per SysClean
- [REF] 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 coppette di reazione
- [REF] 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 puntali di pipettaggio

Accessori per gli analizzatori MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 e **cobas e** 602:

- [REF] 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L di tampone del sistema
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura
- [REF] 03023141001, PC/CC-Cups, 12 coppette per il preriscaldamento di ProCell M e di CleanCell M prima dell'uso
- [REF] 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL di soluzione di lavaggio per la conclusione del run ed il lavaggio al cambio di reattivi
- [REF] 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 supporti da 84 coppette di reazione e 84 puntali di pipettaggio, sacchetti per rifiuti
- [REF] 03023150001, WasteLiner, sacchetti per rifiuti
- [REF] 03027651001, SysClean Adapter M

Accessori per tutti gli analizzatori:

- [REF] 11298500316, SysClean Elecsys, 5 x 100 mL di soluzione di lavaggio per il sistema

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

La risospensione delle microparticelle prima dell'uso avrà luogo automaticamente. Leggere i parametri test-specifici nello strumento dal codice a barre del reattivo. Nel caso eccezionale che non sia possibile leggere il codice a barre, digitare la sequenza di 15 cifre.

Portare i reattivi conservati al fresco alla temperatura di ca. 20 °C e collocarli nel rotore portareattivi (20 °C) dell'analizzatore. Evitare la formazione di schiuma. La regolazione della temperatura esatta, l'apertura e la chiusura dei flaconi avranno luogo automaticamente nello strumento.

Calibrazione

Tracciabilità: il test Ferritin ([REF] 03737551) è stato standardizzato contro il test Ferritin ([REF] 11820982). Il test Ferritin ([REF] 11820982) è stato standardizzato contro il metodo Enzymun-Test Ferritin, il quale, a sua volta, è stato standardizzato contro il 1° Standard Internazionale (SI) "Reagent for Ferritin (human liver)" 80/602 dell'NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control).

Studi sul recupero, incluso uno studio pubblicato,⁹ eseguiti per valutare la tracciabilità del test Ferritin Elecsys a standard internazionali più recenti (2° SI 80/578 e 3° SI 94/572), hanno prodotto risultati con ottima conformità.

Ogni set di reattivi Elecsys possiede un'etichetta con codice a barre contenente le informazioni specifiche per la calibrazione del rispettivo lotto di reattivo. La curva master preimpostata viene adattata all'analizzatore impiegando l'appropriato CalSet.

Frequenza di calibrazione: effettuare una calibrazione per ogni lotto con reattivo fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione della confezione di reattivo sull'analizzatore). Si consiglia di ripetere la calibrazione come segue:

- dopo 1 mese (28 giorni) se si impiega lo stesso lotto di reattivo
- dopo 7 giorni (se si impiega la stessa confezione di reattivo sull'analizzatore)
- all'occorrenza: ad es. se un controllo di qualità si trova al di fuori dei limiti definiti

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl Tumor Marker oppure PreciControl Varia.

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

I controlli per le diverse concentrazioni devono essere eseguiti individualmente almeno 1 volta ogni 24 ore quando il test è in uso, al cambio di ogni confezione di reattivi e dopo ogni calibrazione.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

L'analizzatore effettua il calcolo automatico della concentrazione dell'analita di ogni campione (in µg/L oppure in ng/mL).

Limiti del metodo – interferenze

L'ittero (bilirubina < 1112 µmol/L oppure < 65 mg/dL), l'emolisi (Hb < 0.31 mmol/L oppure < 0.5 g/dL), la lipemia (Intralipid < 3300 mg/dL) e la biotina (< 205 nmol/L oppure < 50 ng/mL) non interferiscono sul test.

Valutazione: recupero entro ±10 % del valore iniziale.

Ai pazienti sottoposti a terapia con alti dosaggi di biotina (>5 mg/die), il campione dovrà essere prelevato almeno 8 ore dopo l'ultima somministrazione di biotina.

Non sono state osservate interferenze da fattori reumatoidi fino ad una concentrazione di 2500 IU/mL.

Nessun effetto hook in caso di concentrazioni di ferritina fino a 100000 µg/L (ng/mL).

Tra 19 farmaci di frequente impiego, testati *in vitro*, non si è osservata alcuna interferenza nel test.

Ferritin

Ferritina

Gli ioni Fe²⁺ e Fe³⁺ a concentrazioni terapeutiche non interferiscono nel test Ferritin Elecsys.

In casi rari possono riscontrarsi interferenze causate da titoli estremamente alti di anticorpi diretti contro anticorpi specifici anti-analita, di anticorpi anti-streptavidina o di anticorpi anti-rutenio. Tali effetti sono ridotti al minimo attraverso un procedimento appropriato del test.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

0.500-2000 µg/L (ng/mL) (definito dal limite di sensibilità inferiore e dal massimo valore della curva master). I valori al di sotto del limite di sensibilità inferiore vengono indicati come <0.500 µg/L (ng/mL). I valori al di sopra dell'intervallo di misura vengono indicati come >2000 µg/L (ng/mL) – oppure, su campioni diluiti 1:50, fino a 100000 µg/L (ng/mL).

Limiti inferiori di misura

Limite di sensibilità inferiore del test

Limite di sensibilità inferiore: 0.50 µg/L (ng/mL)

Il limite di sensibilità inferiore rappresenta la minima concentrazione misurabile dell'analita che può essere distinta dallo zero. Viene calcolato come il valore che si trova 2 deviazioni standard al di sopra dello standard più basso (calibratore master, standard 1 + 2 DS, studio relativo alla ripetibilità, n = 21).

Diluizione

I campioni con concentrazioni di ferritina al di sopra dell'intervallo di misura possono essere diluiti con Diluent Universal. È raccomandata la diluizione 1:50 (automaticamente dagli analizzatori MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 o **cobas e**, o manualmente). La concentrazione del campione diluito deve essere > 40 µg/L (ng/mL).

Dopo la diluizione manuale, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Dopo la diluizione automatica, il software degli analizzatori MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 e **cobas e** calcola automaticamente la concentrazione del campione.

Valori di riferimento

Qui di seguito sono riportati i risultati di uno studio eseguito con il metodo Enzymun-Test Ferritin su campioni prelevati da 224 soggetti sani (104 donne – la cui maggior parte in fase premenopausale – e 120 uomini). I valori corrispondono al 5° e al 95° percentile.¹⁰

Uomini, 20-60 anni: 30-400 µg/L (ng/mL)

Donne, 17-60 anni: 13-150 µg/L (ng/mL)

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata impiegando reattivi Elecsys, pool di sieri umani e controlli, eseguiti in base ad un protocollo (EP5-A2) del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*): 2 serie al giorno, ciascuna in duplicato, per 21 giorni (n = 84). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Analizzatori Elecsys 2010 e cobas e 411					
Campione	Media µg/L (ng/mL)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS µg/L (ng/mL)	CV %	DS µg/L (ng/mL)	CV %
Siero umano 1	1.45	0.101	7.0	0.168	11.6
Siero umano 2	11.9	0.411	3.5	0.798	6.7
Siero umano 3	19.2	0.780	4.1	1.47	7.7
Siero umano 4	376	10.8	2.9	17.2	4.6
Siero umano 5	1361	26.5	1.9	84.4	6.2

Analizzatori Elecsys 2010 e cobas e 411					
Campione	Media µg/L (ng/mL)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS µg/L (ng/mL)	CV %	DS µg/L (ng/mL)	CV %
PreciControl Varia 1	134	1.96	1.5	2.75	2.1
PreciControl Varia 2	858	15.1	1.8	21.7	2.5

Analizzatori MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 e cobas e 602					
Campione	Media µg/L (ng/mL)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS µg/L (ng/mL)	CV %	DS µg/L (ng/mL)	CV %
Siero umano 1	1.12	0.139	12.4	0.263	23.4
Siero umano 2	12.3	0.467	3.8	0.789	6.4
Siero umano 3	20.5	0.837	4.1	1.67	8.1
Siero umano 4	392	8.14	2.1	16.9	4.3
Siero umano 5	1449	35.6	2.5	92.8	6.4
PreciControl Varia 1	140	2.31	1.7	3.53	2.5
PreciControl Varia 2	900	14.4	1.6	25.0	2.8

Confronto tra metodi

Il confronto del test Ferritin, [REF] 03737551, (y), con il test Ferritin, [REF] 11820982, (x), impiegando campioni prelevati da pazienti ospedalizzati, ha prodotto le seguenti correlazioni:

Numero dei campioni misurati: 134

Passing/Bablok¹¹

$$y = 1.00x + 0.72$$

$$\tau = 0.984$$

Regressione lineare

$$y = 0.99x + 4.11$$

$$r = 0.999$$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese fra ca. 2.68 e 1891 µg/L (ng/mL).

Specificità analitica

Ferritina del fegato umano: recupero del 100 %

Ferritina della milza umana: recupero dell'85 %

Ferritina del cuore umano: recupero dell'1 %

Letteratura

- Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Ferritin in Iron Metabolism - Diagnosis of Anemias (second edition). Springer-Verlag 1995; ISBN 3-211-82525-8 and ISBN 0-387-82525-8.
- Arosio P, Levi S, Gabri E, et al. Heterogeneity of ferritin II: Immunological aspects. In: Albertini A, Arosio P, Chiancone E, Drysdale J (eds). Ferritins and isoferritins as biochemical markers. Elsevier, Amsterdam 1984;33-47.
- Kaltwasser JP, Werner E. Serumferritin: Methodische und Klinische Aspekte. Springer Verlag (1980).
- Morikawa K, Oseko F, Morikawa S. A role for ferritin in hematopoiesis and the immune system. Leuk-Lymphoma 1995;18(5-6):429-433.
- Borch-Johnson B. Determination of Iron status: brief review of physiological effects on iron measures. Analyst 1995;120(3):891-903.
- Cook JD, Skikne BS, Baynes RD. Iron deficiency: the global perspective. Adv-Exp-Med-Biol 1994;356:219-228.
- Albertini A, Arosio P, Chiancone E, et al. (eds). Functional aspects of isoferritins. In: Jacobs A, Hodgetts J, Hoy TG. Ferritins and isoferritins as biochemical markers. Elsevier, Amsterdam 1984;113-127.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of Analytes; Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT-Verlag, Darmstadt 1996;14. ISBN 3-928865-22-6.

Ferritin

Ferritina



- 9 Blackmore S, Hamilton M, Lee A, et al. Automated immunoassay methods for ferritin: recovery studies to assess traceability to an international standard. Clin Chem Lab Med 2008;46(10):1450-1457.
- 10 Lotz J, Hafner G, Prellwitz W. Reference Study for Ferritin Assays. Kurzmitteilung Clin Lab 1997;43(11):993-994.
- 11 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore, i rispettivi fogli di applicazione, la Product Information e le metodiche di tutti i componenti necessari (se disponibili nel vostro paese).

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli:

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reattivo
	Calibratore
	Volume dopo ricostituzione o mescolamento

Le aggiunte o modifiche significative sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2013, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

