

Order information:

Catalog No.		Contents					
4551		R1	1 x	100ml	R2	1 x	20 ml
		R4	1 x	5 ml			
H5551	Hit I (ILab*)	R1	6 x	47 ml	R2	6 x	11 ml
H5553	Hit 917 (AU*)	R1	6 x	60 ml	R2	6 x	14 ml
AU5553	AU	R1	6 x	60 ml	R2	6 x	14 ml

(*) Kit contains only reagent barcode for Hitachi system.

System information:

Hitachi 911/917: ACN 661
 For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of iron in human serum and plasma.

Summary:

Ingested iron is mainly absorbed in the form of Fe²⁺ in the duodenum and upper jejunum. The trivalent form and the heme-bound Fe²⁺-component of iron in food has to be reduced by vitamin C. About 1 mg of iron is assimilated daily. Upon reaching the mucosal cells, Fe²⁺ ions become bound to transport substances. Before passing into the plasma, these are oxidized by ceruloplasmin to Fe³⁺ and bound to trans-ferrin in this form. The transport of Fe ions in blood plasma takes place via trans-ferrin-iron complexes. A maximum of 2 Fe³⁺ ions per protein molecule can be trans-ported. Serum iron is almost completely bound to transferrin. Iron (non-heme) measurements are used in the diagnosis and treatment of diseases such as iron deficiency anemia, hemochromatosis (a disease associated with widespread deposit in the tissue of the two iron-containing pigments, hemosiderin and hemofuscin, and characterized by pigmentation of the skin), and chronic renal disease. Iron determinations are performed for the diagnosis and monitoring of microcytic anemia (e.g. due to iron metabolism disorders and hemoglobinopathy), macrocytic anemia (e.g. due to vitamin B12 deficiency, folic acid deficiency and drug-induced metabolic disorders of unknown origin) as well as normocytic anemias such as renal anemia (erythropoietin deficiency), hemolytic anemia, hemoglobinopathy, bone marrow disease and toxic bone marrow damage.

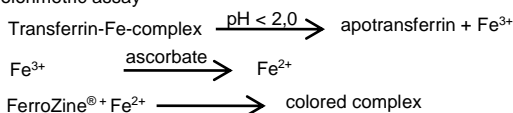
Numerous photometric methods have been described for the determination of iron. All have the following in common:

- Liberation of Fe³⁺ ions from the transferrin complex using acids or detergents.
- Reduction of Fe³⁺ ions to Fe²⁺ ions.
- Reaction of the Fe²⁺ ions to give a colored complex.

The method described here is based on the FerroZine® method without deproteinization.

Test principle:

Colorimetric assay



Under acidic conditions, iron is liberated from transferrin. Lipemic samples are clarified by the detergent. Ascorbate reduces the released Fe³⁺ ions to Fe²⁺ ions which react with FerroZine to form a colored complex. The color intensity is directly proportional to the iron concentration and can be measured photometrically.

Reagent Concentration:

R1:	
Citric acid pH 1.8	200 mmol/l
Thiourea	115 mmol/l
Na-ascorbate	150 mmol/l
detergent	< 1 %
R2:	
Citric acid pH 6.4	200 mmol/l
FerroZine®	6 mmol/l
Stabilizers/ detergents	< 1 %
R4: (#4551)	
Iron	166 µg/dl

Preparation and stability:

R1: Ready for use
 R2: Ready for use
 R4: Ready for use
 Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C.
 Onboard stability:
 R1: 28 days at +2°C to +8°C.
 R2: 28 days at +2°C to +8°C.
 Store protected from light.

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes. Heparinized plasma.

Stability:	7 days	at +20°C to +25°C
	3 weeks	at +4°C to +8°C
	several years	at -20°C

Separate serum or plasma from the clot or cells within 1 hour. EDTA and oxalate plasma cause decreased values.
 Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitation interference:

Criterion: Recovery within ± 10% of initial values.

Icterus: No significant interference up to an index I of 90 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 90 mg/dl). Hemolysis: No significant interference up to an index H of 70 (approximate hemoglobin concentration: 70 mg/dl). Higher hemoglobin concentrations lead to false-positive values due to contamination of the sample with hemoglobin-bound iron.

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 500 (approximate triglycerides concentration: 1000 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration. In patients treated with Deferoxamine, the drug-bound serum iron does not react in the test, resulting in falsely lowered values.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

- Working solutions as described above

Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual Testing Procedure:

Wavelength:	Hg 578 nm (560nm)	
Reaction temperature:	+37°C	
Cuvette:	1 cm light path	
Zero adjustment:	One reagent blank for each series	

	Blank	Sample/ Calibrator
R1	1000 µl	1000 µl
Aqua dest.	100 µl	---
Sample/ Calibrator	---	100 µl

Mix and incubate 5 minutes. Read the absorbance A₁. Then add:

	Blank	Sample/ Calibrator
R2	200 µl	200 µl

Mix and incubate 5 minutes. Read the absorbance A₂

Calculation:

$$\frac{A2 \text{ Sample} - A1 \text{ Sample}}{A2 \text{ Calibrator} - A1 \text{ Calibrator}} \times \text{Calibrator conc.} = \text{Iron in } \mu\text{g/dl}$$

SI Units: (µg/dl) x 0.1791 = µmol/l

Measuring range:

5 -1000 µg/dl (0.895-179 µmol/l)

Determine samples with higher concentrations µg/dl via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute these samples with 0.9% NaCl (e.g. 1 + 1). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 2).

Reference value:

Serum/plasma
 Men: 59-158 µg/dl (10.6-28.3 µmol/l)
 Women: 37-145 µg/dl (6.6-26.0 µmol/l)

The concentration of iron in serum/plasma is dependent on the diet and is subject to circadian variations.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the iron results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 1.5 µg/dl (0.269 µmol/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable iron concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls within run (n = 20). The following results were obtained:

Within run			
Sample	Mean µmol/l	SD µmol/l	CV %
Sample 1	120.97	2.36	1.95
Sample 2	183.32	1.75	0.95
Sample 3	191.58	3.02	1.58

Reproducibility was determined using controls in an internal protocol between day (n = 10). The following results were obtained:

Between day			
Sample	Mean µmol/l	SD µmol/l	CV %
Sample 1	112.82	1.72	1.52
Sample 2	178.01	4.63	2.60
Sample 3	190.22	3.50	1.84

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest Fe-FZ (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 78 samples the following result (µmol/l):

$$y = 1.001x - 0.493; \quad r = 0.997$$

Quality Control:

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Multicalibration

S1: 0.9% NaCl		
S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

Calibration frequency:

Two-point calibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
2. Bernat I. Eisenresorption. In: Bernat I (Hrsg.). Eisenstoffwechsel. Stuttgart/New York: Gustav Fischer, 1981:36-37.
3. de Jong G, von Dijk IP van Eijk HG. The biology of transferrin. Clin Chim Acta 1990;190:1-46.
4. Einer G, Zawta B. Präanalytikfibel, 2nd. Leipzig/Heidelberg: Verlag AW Barth, 1991.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
6. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Pre-analytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
7. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
8. Siedel J, Wahlefeld AW, Ziegenhorn J. A new iron ferro zine reagent without deproteinization. Clin Chem 1984;30:975 (AACC Meeting-Abstract).
9. Weippl G, Pantlitschko M, Bauer P et al. Normal values and distribution of single values of serum iron in cord blood. Clin Chim Acta 1973;44:147-149.
10. Wick M, Pinggera W, Lehmann P (Hrsg.). Eisenstoffwechsel, Diagnostik und Therapie der Anämien, 3rd. Wien/New York: Springer Verlag, 1996.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt				
4551	R1 1 x 100ml	R2 1 x 20 ml			
	R4 1 x 5 ml				
H5551	Hit I (ILab*)	R1 6 x 47 ml	R2 6 x 11 ml		
H5553	Hit 917 (AU*)	R1 6 x 60 ml	R2 6 x 14 ml		
AU5553	AU	R1 6 x 60 ml	R2 6 x 14 ml		

(*) Kit enthält nur Reagenzien Barcodes für Hitachi Systeme.

Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 661
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

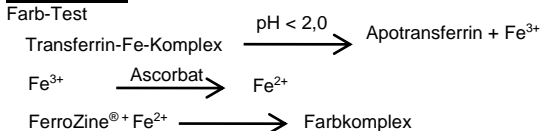
In vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Eisen in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

Aufgenommenes Eisen wird im Duodenum und oberen Jejunum hauptsächlich als Fe²⁺ resorbiert. Das in dreiwertiger Form neben dem hämgebundenen Fe²⁺-Anteil vorliegende Nahrungseisen muss durch Vitamin C reduziert werden. Täglich wird etwa 1mg Eisen aufgenommen. Beim Eintritt in die Mukozelle werden die Fe²⁺-Ionen an Transportsubstanzen gebunden. Vor dem Übertritt ins Plasma werden sie durch Ceruloplasmin zu Fe³⁺ oxidiert und in dieser Form an Transferrin gebunden. Der Transport der Fe-Ionen im Blutplasma erfolgt in Form des Transferrin-Eisen-Komplexes, pro Proteinmolekül können maximal 2 Fe³⁺-Ionen transportiert werden. Das Serumeisen ist nahezu vollständig an Transferrin gebunden. Eisenbestimmungen (Nicht-Hämeisen) dienen zur Diagnose und Verlaufskontrolle von Eisenmangel-anämien, Hämochromatosen (eine Krankheit, die allgemein mit Ablagerungen in den Geweben von zwei eisenhaltigen Pigmenten, Hämosiderin und Hämo-fuszin, einhergeht und durch Hauptpigmentierungen charakterisiert wird) sowie chronischen Nierenerkrankungen. Eisenbestimmungen werden zur Diagnose und Verlaufskontrolle von mikrozytären Anämien wie Eisenstoffwechselstörung und Hämoglobinopathie, von makrozytären Anämien wie Vitamin B 12-Mangel, Folsäuremangel und medikamenteninduzierter Stoffwechselstörung unbekanntem Ursprungs sowie von normozytären Anämien wie renaler Anämie (Erythropoetinmangel), hämolytischer Anämie, Hämoglobinopathie, Knochenmarkerkrankung und toxischem Knochen-markschaden durchgeführt. Zahlreiche photometrische Methoden wurden für die Eisenbestimmung beschrieben. Alle haben folgende Schritte gemeinsam:

- Freisetzen der Fe³⁺-Ionen aus dem Transferrin-Komplex mittels Säuren oder Detergenz.
 - Reduktion der Fe³⁺-Ionen zu Fe²⁺-Ionen.
 - Reaktion der Fe²⁺-Ionen zu einem Farbkomplex.
- Die vorliegende Methode beruht auf der FerroZine®-Methode ohne Enteiweißung.

Testprinzip:



Eisen wird im sauren pH-Bereich von Transferrin abgelöst. Lipämische Proben werden durch Detergenz aufgehellt. Ascorbat reduziert die gebildeten Fe³⁺-Ionen zu Fe²⁺-Ionen. Fe²⁺ bildet mit FerroZine® einen gefärbten Komplex, dessen Farbintensität, direkt proportional der Eisenkonzentration, photometrisch gemessen wird.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Zitronensäure pH 1.8	200 mmol/l
Thioharnstoff	115 mmol/l
Na-Ascorbat	150 mmol/l
Detergenz	< 1 %
R2:	
Zitronensäure pH 6,4	200 mmol/L
FerroZine®	6 mmol/L
Stabilisatoren/ Detergenz	< 1 %
R4: (#4551)	
Eisen	166 µg/dl

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig
R4: Inhalt ist gebrauchsfertig
Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C bis +8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.
Onboard Stabilität: R1 28 Tage bei +2°C bis +8°C.
R2 28 Tage bei +2°C bis +8°C.

Vor Lichteinfall schützen

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probeentahmeröhrchen.
Heparin-Plasma.
Haltbarkeit: bei 7 Tage +20°C bis +25°C
bei 3 Wochen +4°C bis +8°C
bei mehrere Jahre stabil -20°C
Serum bzw. Plasma innerhalb von 1 Stunde vom Blutkuchen bzw. den Zellen abtrennen.
EDTA- und Oxalat-Plasma führen zu erniedrigten Wiederfindungen.
Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ± 10% vom Ausgangswert.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 90 (ca. 90 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 70 (ca. 70 mg/dl Hämoglobin). Höhere Hämoglobinkonzentrationen führen durch Kontamination der Probe mit Hämoglobin- gebundenem Eisen zu falsch positiven Werten.
Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 500 (ca. 1000 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.
Bei mit Deferoxamin behandelten Patienten wird das an dieses Medikament gebundene Serumeisen im Test nicht mit erfasst und führt zu falsch erniedrigten Werten.
Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

- Delieferte Materialien*
- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.
- Zusätzlich benötigte Materialien*
- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
 - Natriumchlorid-Lösung (0.9%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	Hg 578 nm (560nm)
Temperatur:	+37°C
Schichtdicke:	1 cm
Messung:	Pro Testreihe ein Reagenzienleerwert

	Leerwert	Probe/ Kalibrator
R1	1000 µl	1000 µl
Aqua dest.	100 µl	---
Probe/ Kalibrator	---	100 µl

Mischen. Nach 5 Minuten E₁ ablesen. Dann zufügen:

	Leerwert	Probe/ Kalibrator
R2	200 µl	200 µl

Mischen und 5 Min. inkubieren. Dann E₂ ablesen.

Berechnung:

$$\frac{E2 \text{ Probe} - E1 \text{ Probe}}{E2 \text{ Kalibrator} - E1 \text{ Kalibrator}} \times \text{Kalibratorkonz.} = \text{Eisen in } \mu\text{g/dl}$$

SI Units: (µg/dl) x 0.1791 = µmol/l

Messbereich:

5 – 1000 µg/dl bzw. 0,895 – 179 µmol/l
Proben mit höheren Konzentrationen werden über eine Rerun-Funktion bestimmt. Bei Geräten ohne Rerun-Funktion werden diese Proben manuell mit 0,9% NaCl-Lösung verdünnt (z.B. 1+1). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren. (z.B. Faktor 2).

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 1,5 µg/dl bzw. 0,269 µmol/l
Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Eisenkonzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Referenzbereich:

Serum/Plasma

Männer: 59-158 µg/dl bzw. 10,6-28,3 µmol/l

Frauen: 37-145 µg/dl bzw. 6,6-26,0 µmol/l

Der Eisenspiegel im Serum/Plasma ist ernährungsabhängig und unterliegt tageszeitlichen Schwankungen.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Eisenergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben in Serie (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW µmol/l	SD µmol/l	VK %
Probe 1	120,97	2,36	1,95
Probe 2	183,32	1,75	0,95
Probe 3	191,58	3,02	1,58

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben von Tag zu Tag (n = 10) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	Tag zu Tag		
	MW µmol/l	SD µmol/l	VK %
Probe 1	112,82	1,72	1,52
Probe 2	178,01	4,63	2,60
Probe 3	190,22	3,50	1,84

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest Fe-Fz (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 78 Proben folgende Ergebnisse erhalten (µmol/l):

$$y = 1,001x - 0,493; \quad r = 0,997$$

Qualitätskontrolle:

Humane Kontrollseren:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Multikalibrator

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

Kalibrationshäufigkeit:

Zweipunktkalibration wird empfohlen

- bei Reagenzchargenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern.

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

- Bablok W. et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem. 1988 ; 26 : 783-790
- Bernat I. Eisenresorption. in: Bernat I (Hrsg.). Eisenstoffwechsel. Stuttgart/New York: Gustav Fischer, 1981:36-37 und 68-84.
- de Jong G, von Dijk IP van Eijk HG. The biology of transferrin. Clin Chim Acta 1990;190:1-46.
- Einer G, Zawta B. Präanalytikfibel, 2.Auflage. Leipzig/Heidelberg: Verlag AW Barth, 1991 .
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Pre-analytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
- Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
- Siedel J, Wahlefeld AW, Ziegenhorn J. A new iron ferro zine reagent without deproteinization. Clin Chem 1984;30:975 (AACC Meeting-Abstract).
- Weippl G, Pantlitschko M, Bauer P et al. Normal values and distribution of single values of serum iron in cord blood. Clin Chim Acta 1973;44:147-149.
- Wick M, Pinggera W, Lehmann P (Hrsg.). Eisenstoffwechsel, Diagnostik und Therapie der Anämien, 3. Auflage. Wien/New York: Springer Verlag, 1996.