

Order information:

Catalog No.	Contents			
1258	R1	1 x	100ml	R2 1 x 100 ml
	R4	1 x	5 ml	

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 transferrin in this form. The transport of Fe ions in blood plasma takes place via transferrin-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.

Test principle:

Serum iron is liberated from its complex with transferrin by the action of surfactants at acid pH values; once liberated, it is reduced to Fe²⁺ and reacts with bathophenanthroline to produce a coloured complex which is photometrically determined.

Reagent concentration:

R1:	
Acetat buffer pH 4.7	0.2 mol/l
Hydroxylamine	0.06 mol/l
Bathophenanthroline	0.2 mmol/l
R2:	
Acetate buffer pH 4.7	0.2 mol/l
Hydroxylamine	0.06 mol/l
R4:	
Iron	166 µg/ dl

Preparation and stability:

All reagents are ready to use. When kept at +15°C to + 25°C, the components of this kit will remain stable until the expiration date stated on the label.

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.

Due to the color of the sample itself, a serum blank should be introduced. It is necessary as well, to include a reagent blank to subtract the reagent absorbance. Too lipaemic sera can give rise to some turbidity in the sample.

Avoid any possible iron contamination in the glassware to be used in the assay.

Thus, one of the following options is recommended:

- to use disposable material
- soaking the glassware in 6N HCl or 25 % HNO₃.

Do not introduce pipettes in any of the reagent bottles so as to avoid any possible contamination by this reason.

Measuring range:

5 - 700 µg/dl (0.90-125 µmol/l)

Dilute samples with concentrations > 700 µg/dl with 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1 + 1). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 2).

Limitation interference:

Criterion: Recovery within ± 10% of initial values.

Icterus: No significant interference up to an index I of 79 (approximate bilirubin concentration: 79 mg/dl).

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 200 (approximate hemoglobin concentration: 200 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 1220 (approximate triglycerides concentration: 2441 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

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:

Materials provided

- Working solutions as described above

Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual Procedure :				
Wavelength:	Hg 546 nm, (535 nm)			
Temperature:	+25°C			
Cuvette:	1 cm light path			
Zero adjustment:	against water			
Macro	Reagent Blank	Sample Blank	Sample	Calibrator
R1	3000 µl	----	3000 µl	3000 µl
R2	----	3000 µl	----	----
Aqua dest.	500 µl	----	----	----
Sample	----	500 µl	500 µl	----
Calibrator	----	----	----	500 µl
Semi-Micro	Reagent Blank	Sample Blank	Sample	Calibrator
R1	600 µl	----	600 µl	600 µl
R2	----	600 µl	----	----
Aqua dest.	100 µl	----	----	----
Sample	----	100 µl	100 µl	----
Calibrator	----	----	----	100 µl
Mix vigorously, until serum proteins have been completely dissolved. Let stand for 30 minutes at room temperature				
Calculation:				
$\frac{\Delta A2 \text{ sample} - \Delta A1 \text{ sample blank}}{\Delta A2 \text{ Calib.} - \Delta A1 \text{ reagent blank}} \times 166 = \mu\text{g iron}/100\text{ml}$				
SI Units: (µg/100) x 0.1791 = µmol/l				

Reference value:

Women:	37 – 145 µg/dl (6.6 - 26.0 µmol/l)
Men:	59 – 158 µg/dl (10.6 - 28.3 µmol/l)
Newborn Babies:	150 – 220 µg/dl (26.9 - 39.5 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.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls. The following results were obtained.

Between day			
Sample	Mean µg/dl	SD µg/dl	%CV
Control serum 1	113	2.14	1.88
Control serum 2	164	4.99	3.03
Control serum 3	184	4.70	2.55
Within run			
Sample	Mean µg/dl	SD µg/dl	%CV
Control serum 1	111	1.49	1.32
Control serum 2	153	2.14	1.39
Control serum 3	178	0.78	0.44

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 5µg/dl (0.90 µmol/l)

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

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest Iron-B (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result:

$$y = 1.001x + 0,493; \quad r = 0.997$$

Quality control:

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® 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:

S1: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

R4: calibrator provided in kit

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 (ed.). 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 (ed.). Eisenstoffwechsel, Diagnostik und Therapie der Anämien, 3rd Wien/New York: Springer Verlag, 1996.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt			
1258	R1	1 x	100ml	R2 1 x 100 ml
	R4	1 x	5 ml	

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 1 mg Eisen aufgenommen. Beim Eintritt in die Mukozelle werden die Fe²⁺-Ionen an Transport-substanzen gebunden. Vor dem Übertritt ins Plasma werden sie durch Coeruloplasmin 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 Serum-eisen ist nahezu vollständig an Transferrin gebunden. Eisenbestimmungen (Nicht-Hämeisen) dienen zur Diagnose und Verlaufskontrolle von Eisenmangelanämien, Hämochromatosen (eine Krankheit, die allgemein mit Ablagerungen in den Geweben von zwei eisenhaltigen Pigmenten, Hämosiderin und Hämfosuzin, einhergeht und durch Hautpigmentierungen charakterisiert wird) sowie chronischen Nierenerkrankungen. Eisenbestimmungen werden zur Diagnose und Verlaufskontrolle von mikrozytären Anämien wie Eisenstoffwechselstörung und Hämoglo-binopathie, von makrozytären Anämien wie Vitamin B 12-Mangel, Folsäuremangel und medikamenteninduzierter Stoffwechselstörung unbekanntem Ursprungs sowie von normozytären Anämien wie renaler Anämie (Erythropoetinmangel), hämolytischer Anämie, Hämoglobino-pathie, Knochenmarkerkrankung und toxischem Knochenmarkschaden durchgeführt.

Testprinzip:

Serumeisen wird durch Detergenz im schwach sauren pH-Bereich von Transferrin getrennt und durch Hydroxylamin zu Fe²⁺ reduziert. Bathophenanthrolin und Fe²⁺ bilden einen Farbkomplex, der photometrisch gemessen werden kann.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Acetatpuffer, pH 4.7	0.2 mol/l
Hydroxylamin	0.06 mol/l
Bathophenanthrolin	0.2 mmol/l
R2:	
Acetatpuffer pH 4.7	0.2 mol/l
Hydroxylamin	0.06 mol/l
R4:	
Eisen	166 µg / dl

Herstellung und Haltbarkeit:

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig. Bei +15°C bis +25°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.

Untersuchungsgut

Serum, entnommen mit Standard-Probeentahmeröhrchen.
Heparin-Plasma
Haltbarkeit: 7 Tage bei +20°C bis +25°C
3 Wochen bei +4°C bis +8°C
mehrere Jahre bei -20°C stabil

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.

Die Messung mit Substratstart wird empfohlen. Probenstart kann nur für normale ikterische Proben angewandt werden. Lipämische und hämolytische sollten mit Substratstart gemessen werden.
Um Eisenkontaminationen zu vermeiden, sollte nur Einwegmaterial verwendet werden. Glasgeräte mit verdünnter 6N HCl oder 25 % HNO₃ spülen.

Messbereich:

5 – 700 µg/dl bzw. 0.90 – 125 µmol/l
Proben mit höheren Konzentrationen werden mit NaCl-Lösung verdünnt (z.B. 1+1). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren. (z.B. Faktor 2).

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ± 10% vom Ausgangswert.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 79 (ca. 79,0 mg/dl Bilirubin).
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 200 (ca. 200 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 1220 (ca. 2441 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.
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:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
• Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge: Hg 546 nm, (535 nm)
Temperatur: +25°C
Schichtdicke: 1 cm
Messung: gegen Aqua dest.

Macro	Reagenzien-Leerwert	Proben-Leerwert	Probe	Kalibrator
R1	3000 µl	----	3000 µl	3000 µl
R2	----	3000 µl	----	----
Aqua dest.	500 µl	----	----	----
Probe	----	500 µl	500 µl	----
Kalibrator	----	----	----	500 µl

Semi-Micro	Reagenzien-Leerwert	Proben-Leerwert	Probe	Kalibrator
R1	600 µl	----	600 µl	600 µl
R2	----	600 µl	----	----
Aqua dest.	100 µl	----	----	----
Probe	----	100 µl	100 µl	----
Kalibrator	----	----	----	100 µl

Sehr gründlich mischen, bis das Serumprotein vollständig gelöst ist. 30 Min. bei RT stehen lassen.

Berechnung:

$\Delta E2 \text{ Probe} - \Delta E1 \text{ Proben-Leerwert} \times 166 = \mu\text{g Eisen}/100\text{ml}$
 $\Delta E2 \text{ Kalibr.} - \Delta E1 \text{ Reagenzien-Leerwert}$

SI Units: $(\mu\text{g}/100) \times 0.1791 = \mu\text{mol/l}$

Referenzbereich:

Frauen: 37 – 145 µg/dl bzw. 6,6 - 26,0 µmol/l
Männer: 59 – 158 µg/dl bzw. 10,6 - 28,3 µmol/l
Neugeborene 150 – 220 µg/dl bzw. 26,9 - 39,5 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 bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

	Tag / Tag		
Probe	MW µg/dl	SD µ/dl	%VK
Kontrollserum 1	113	2,14	1,88
Kontrollserum 2	164	4,99	3,03
Kontrollserum 3	184	4,70	2,55

	In der Serie		
Probe	MW µg/dl	SD µ/dl	%VK
Kontrollserum 1	111	1,49	1,32
Kontrollserum 2	153	2,14	1,39
Kontrollserum 3	178	0,78	0,44

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 5 µg/dl bzw. 0,90 µmol/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Eisenkonzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Iron-B (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten:

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

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:

S1: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

R4:Kalibrator in Kit enthalten

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

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 und 68-84.
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, 2.Auflage. 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, 3. Auflage. Wien/New York: Springer Verlag, 1996.