

### Order information:

Catalog No.	Contents		
23659	R1	2 x 100 ml	R2 1 x 40 g

### Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of total iron binding capacity in human serum.

### Summary:

The serum total iron-binding capacity (TIBC) represents the maximum concentration of iron that can be bound by an organisms' serum protein.

About 65% of the iron in the body is in haemoglobin (in red blood cells) and about 4% in myoglobin (in skeletal muscle). About 30% of the iron in the body is stored (as ferritin or hemosiderin) in liver, bone marrow, and reticuloendothelial cells of the spleen. A small percentage of the body's iron is in transport between various compartments of the body (in association with transferrin) or is a component of enzymes in cells throughout the body. Free iron is very reactive (it stimulates free radical reactions) and is not normally in body fluids. Serum iron, as measured in the clinical laboratory, is really transferrin-associated ferric iron. Each transferrin molecule can carry 2 iron atoms. Normally about 30% of the available sites are filled. This is called the percent transferrin saturation. By completely saturating all the available binding sites, it is possible to measure the total iron binding capacity (TIBC). This is a measure of the transferrin level in the serum. TIBC is usually elevated when total body iron stores are low. TIBC and percent transferrin saturation are usually measured at the same time serum iron is measured.

The TIBC is increased in iron deficiency anemia, polycythemia vera, pregnancy, hepatitis, and the use of birth control pills. The TIBC is decreased in malnutrition and hemochromatosis.

### Test principle:

Excess ferric iron is added to the specimen to saturate the transferrin. Remaining ferric iron is absorbed by  $MgCO_3$  and precipitated by centrifugation. Protein-bound iron in the supernatant is what has been named TIBC (Total Iron Binding Capacity), assayed in the same manner as in iron determination.

### Reagent concentration:

<b>R1:</b>	
Iron	500 µg/dl (= 89.5 µmol/l)
<b>R2:</b>	
Magnesium carbonate	40 g

### Preparation and stability:

All reagents are ready to use.

When kept at room temperature, the components of this kit will remain stable until the expiration date stated on the label.

### Specimen:

Serum free of hemolysis.

Stability:	8 hours	at +20°C to +25°C
	24 hours	at +2°C to +8°C
	1 month	at -20°C

Avoid plasma. If necessary, use heparin-plasma.

Specimen must not contain any iron chelating agent (EDTA).

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay. The supernatant used in the determination of iron-binding capacity must be absolutely clear. Otherwise it has to be decanted and centrifuged again. Use only swing-out centrifuges, not ones with a fixed angle rotor.

### 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.

### Limitations - interference:

Iron chelating agents (e.g. EDTA) interfere with the  $MgCO_3$  - precipitation reaction. Do not use materials that contain or release iron for the test.

Interferences with the iron concentration measurement:

See package insert of Fluitest® Fe-FZ.

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 materials as described above

#### Additional materials required

- Centrifuge with at least 3000 rpm
- Spatula or small spoon
- Appropriate centrifuge tubes

### Manual procedure:

Combine in a suitable vial:

Serum	1000 µl
Reagent/R1	2000 µl

Mix well and allow to stand for 10 minutes at room temperature. Then add:

Reagent/R2	2 spatula tips (approx. 300 – 350 mg)
------------	---------------------------------------

Recap the vial or cover it with plastic wrap and shake vigorously for 15 to 20 seconds.

Incubate for 30 minutes and shake occasionally (4 – 5 times).

Centrifuge for 10 minutes at approx. 3000rpm.

Collect the supernatant

The supernatant can be stored for up to one hour.

Perform iron assay as described in the Fluitest® Fe-FZ without deproteinization.

### Calculation:

#### 1) Total iron binding capacity (TIBC):

Iron conc. in the supernatant (µg/dl) x 3 (Dilution factor) = Serum TIBC (µg/dl)

#### 2) Unsaturated iron binding capacity (UIBC):

TIBC (µg/dl) – Serum iron (µg/dl) = UIBC (µg/dl)

#### 3) Siderophilin or Transferrin

Assuming that 1 mg of Transferrin may bind a maximum of 1.2 µg iron, approximate concentrations can be obtained by:

TIBC (µg/dl) : 1.2 = Transferrin (mg/dl)

### Measuring /reportable range:

Iron concentration is measured with the Fluitest® Fe-FZ.

Due to the 3-fold dilution the measuring range is:

15 -3000 µg/dl (2.70 – 537 µmol/l)

Determine samples with concentrations > 3000 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).

### Expected Values:

TIBC	250 – 400 µg/dl
UIBC	160 – 280 µg/dl
Transferrin	210 – 360 µg/dl

Conversion between conventional and SI units:

µg/dl x 0.179 = µmol/l

µmol/l x 5.58 = µg/dl

### Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 15 µg/dl (2.70 µmol/l)

This limit results from the concentration determination with the Fe-FZ method.

### Imprecision:

Reproducibility was determined using human samples (n=20). The following results were obtained:

Sample	Within run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Control serum	33.51	1.70	5.08

Sample	Between day		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Control serum I	33.51	1.70	5.08
Control serum II	49.11	0.86	1.75
Control serum III	97.32	2.15	2.21

**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: 0.9% NaCl

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

**Special note:**

Supplementary pack for Fluitest® Fe-FZ

**Literature:**

1. Kunesh JP and Small LL. Adaptation of the Zak-Epstein automated micromethod for serum iron to determine iron-binding capacity and urinary iron. Clin Chem 1970;16: 148-149.
2. Tietz N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup> Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995:2059-2072.
3. Yamanishi H., Iyama S. et al. Total Iron-binding Capacity Calculated from Serum Transferrin Concentration or Serum Iron Concentration and Unsaturated Iron-binding Capacity Clin Chem 2003;49: 175-178.

### Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
23659	R1 2 x 100 ml   R2 1 x 40 g

### Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung der Gesamt-Eisenbindung in Humanserum.

### Zusammenfassung:

Die Gesamt-Eisen-Bindungskapazität, auch als Totale Eisen-Bindungskapazität (TEBK, engl. TIBC) bezeichnet, spiegelt die maximale Eisenkonzentration wieder, die von den Serumproteinen eines Individuums gebunden werden kann.

Ungefähr 65% des Eisens im Körper ist im Hämoglobin (innerhalb der roten Blutkörperchen) und ca. 4% im Myoglobin in den Skelettmuskeln gebunden. Weitere 30% liegen als Speichereisen an Ferritin oder Hämosiderin gebunden in Leber, Knochenmark und in den retikuloendothelialen Zellen der Milz vor. Nur ein kleiner Anteil des Körpereisens wird zwischen den verschiedenen Kompartimenten transportiert oder ist Cofaktor verschiedener Enzyme. Da freies Eisen sehr reaktiv ist, ist es während des Transports an Transferrin gebunden. Bis auf einen sehr kleinen Anteil, der an andere Serumproteine gebunden ist, stellt das Transferrin gebundene Eisen das diagnostisch bestimmte Serum-Eisen. Jedes Transferrin besitzt 2 Eisenbindungsstellen und normalerweise sind 30% aller Bindungsstellen gesättigt, dies wird als Transferrin-Sättigung bezeichnet. Eine komplette Sättigung aller Transferrin-Bindungsplätze ermöglicht die Bestimmung der Gesamt-Eisen-Bindungskapazität (TIBC), die ebenfalls ein Maß für die Konzentration des Transferrins im Blut darstellt. TIBC ist gewöhnlich erhöht wenn sich die Eisenspeicher verringern. TIBC, Transferrin-Sättigung und Serum-Eisen werden üblicherweise im Zusammenhang bestimmt.

TIBC liegt bei Eisenmangel-Anämien, primärer Polyzythämie, Schwangerschaft, Hepatitis und gelegentlich bei der Einnahme von Verhütungsmitteln erhöht vor. Bei Unter- oder Fehlernährung und Hämatochromatose ist der TIBC-Wert erniedrigt.

### Testprinzip:

Ein Überschuss von Eisenionen wird zur Probe gegeben um vorhandenes Transferrin abzusättigen. Ungebundene Eisenionen werden an  $Mg\ CO_3$  absorbiert und durch Zentrifugation abgetrennt. Das an Protein gebundene Eisen im Überstand wird als Gesamt-Eisen-Bindungskapazität bestimmt.

### Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

<b>R1:</b> Eisen	500 µg/dl (= 89.5 µmol/l)
<b>R2:</b> Magnesiumcarbonat	40 g

### Herstellung und Haltbarkeit:

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.  
Die Reagenzien sind bei Lagerung bei RT bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

### Untersuchungsgut:

Hämolysefreies Serum.	
Stabilität:	8 Stunden bei +20°C bis +25°C
	24 Stunden bei +2°C bis +8°C
	1 Monat bei -20°C

Verwendung von Plasma vermeiden, falls erforderlich, Heparin-Plasma verwenden.  
Die Proben dürfen keine Eisen-chelatierende Reagenzien enthalten (z.B. EDTA)

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden. Der Überstand muss absolut klar sein. Anderenfalls muss er umgefüllt und nochmals zentrifugiert werden. Nur einen Ausschwingrotor benutzen, keinen Festwinkelrotor.

### 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:

Eisen-bindende Reagenzien (EDTA) interferieren mit der  $MgCO_3$  - Fällung.  
Die Probe sollte keine eisenhaltigen Wirkstoffe enthalten. Materialien oder Gefäße, die für die Probenverarbeitung benutzt werden dürfen kein Eisen freisetzen.

Interferenzen mit der Eisen-Konzentrationsbestimmung:  
Arbeitsanleitung Fluitest® Fe-FZ beachten.

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

- Zentrifuge mit mindestens 3000 Upm
- Spatel oder kleiner Löffel
- Geeignetes Gefäß für die Zentrifugation

### Manuelle Testdurchführung:

In einem geeigneten Gefäß zusammengeben:

Serum	1000 µl
Reagenz/R1	2000 µl

Gut mischen und 10 Minuten bei RT stehen lassen. Dann zugeben:

R2	2 Löffel (ca. 300 – 350 mg)
----	-----------------------------

Verschrauben oder mit Frischhaltefolie verschließen und 15 bis 20 Sekunden kräftig schütteln.

30 Minuten stehen lassen, dabei gelegentlich schütteln (4-5 Mal).

10 Minuten bei etwa 3000 Upm zentrifugieren.  
Überstand umfüllen.

Der Überstand ist 1 Stunde stabil.

Ausführung wie bei Fluitest® Fe ohne Enteiweißung beschrieben.

### Berechnung:

#### 1). Gesamt Eisenbindung (TIBC):

Fe-konz. im Überstand (µg/dl) x 3 (Verdünnungsfaktor) = Serum TIBC (µg/dl)

#### 2). ungesättigte Eisenbindung (UIBC):

TIBC (µg/dl) – Serumeisen (µg/dl) = UIBC (µg/dl)

#### 3). Siderophilin oder Transferrin:

Unter der Annahme dass 1 mg Transferrin maximal 1,2 µg Eisen binden kann, können annähernde Werte mit folgendem Ausdruck berechnet werden:  
TIBC (µg/dl) : 1,2 = Transferrin (mg/dl)

### Messbereich:

Die Eisenkonzentration wird mit FLUITEST® Fe-FZ bestimmt. Aufgrund der dreifachen Verdünnung ergibt sich für TIBC ein Messbereich von 15 - 3000 µg/dl (2,70 – 537 µmol/l)

Bei höheren Konzentrationen als 3000 µg/dl werden die Proben mit Rerun-Funktion bestimmt oder manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt (z.B. 1 : 1) und das Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor (z.B. 2) multipliziert.

### Referenzbereiche:

TIBC	250 – 400 µg/dl
UIBC	160 – 280 µg/dl
Transferrin	210 – 360 µg/dl

Umrechnung zwischen gebräuchlichen und SI-Einheiten:

µg/dl x 0,179 = µmol/l

µmol/l x 5,58 = µg/dl

### Sensitivität (analytische Nachweisgrenze)

Nachweisgrenze: 15 µg/dl (2,70 µmol/l)

Die Nachweisgrenze ergibt aufgrund der Konzentrationsbestimmung mit der Fe-FZ Methode.

### Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Kontrollserum	33,51	1,70	5,08

Probe	Tag /Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Kontrollserum 1	33,51	1,70	5,08
Kontrollserum 2	49,11	0,86	1,75
Kontrollserum 3	97,32	2,15	2,21

**Qualitätskontrolle:**

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

**Zur Beachtung:**

Ergänzungspackung für Fluitest® Fe-FZ.

**Literatur:**

1. Kunesh JP and Small LL. Adaptation of the Zak-Epstein automated micromethod for serum iron to determine iron-binding capacity and urinary iron. Clin Chem 1970;16: 148-149.
2. Tietz N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup> Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995:2059-2072.
3. Yamanishi H., Iyama S. et al. Total Iron-binding Capacity Calculated from Serum Transferrin Concentration or Serum Iron Concentration and Unsaturated Iron-binding Capacity Clin Chem 2003;49: 175-178.