

A szérumból a vas koncentrációjának meghatározására szolgáló reagenskészlet. Kolorimetriás módszer.

A meghatározás elve

A transzferrinről pH=4,8-on leváló háromértékű vasból (Fe³⁺) redukáló szer hatására kétféleképpen keletkezik, mely a ferrozinnal vörös színű komplexet ad. Az 570 nm-en mért abszorbancia arányos a minta vas koncentrációjával.

Referencia-értéktartomány

Szérumból a vas

Nők: **6,6-26 μmol/l (37-145 μg/dl)**
Férfiak: **11-28 μmol/l (59-158 μg/dl)**
Gyermekek: **9,0-21,5 μmol/l (50-120 μg/dl)**

A referencia-értéktartományt a következő körülmények befolyásolhatják: étkezési szokások, nem, kor, fizikai állapot, menstruációs ciklus, terhesség, környezeti hatások és napszaki ingadozás.

Reagens

1. Reagens (R1)

Acetát puffer, pH=4,8: 100 mmol/l
Guanidin: 6 mmol/l
Tiokarbamid redukálószer: 52,5 mmol/l

2. Reagens (R2)

Ferrozin: 40 mmol/l

3. Standard

Csak a 45661S és 45662S katalógusszámú terméknel. Kérjük olvassa el a mellékelt standard használati utasítást.

Biztonsági információk:

Reagens 1:

Figyelem. Guanidin-hidrokloridot tartalmaz. Lenyelve ártalmas. Súlyos szemirritációt okoz. SZEMBE KERÜLÉS esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Minta

Hemolizismentes szérumból. A hemolízis zavarja a meghatározást. Antikoagulánsként kelátképző anyagok nem használhatók. A tiokarbamid kiküszöbölési a rézionok interferenciáját. Stabilitás: 1 hét (2-8°C)

Reagens stabilitás

Fénytől védve és 2-25 °C-on tárolva a reagens
felbontás nélkül: a címkén jelzett időpontig
felbontás után: 30 nap
kalibrációs gyakoriság: 7 nap
onboard stabilitás: 7-14 nap
A stabilitások kizárólag új rendszerflakon használata esetén érvényesek!

A VIZSGÁLAT KIVITELEZÉSE

A reagens felhasználatra kész.

Mérési eljárás:

Hullámhossz: 570 nm
Másodlagos hullámhossz: 600 nm
Hőmérséklet: 37°C
Fényút: 1 cm
Mérési mód: végpontos (növekvő)
Mérés: reagens vakkal szemben

Bemérés:

Kétreagens:

	vak	standard	minta
R1	800 μl	800 μl	800 μl
desztillált víz	100 μl		
standard		100 μl	
minta			100 μl

Keverjük össze, inkubáljuk 3 percig.

R2	200 μl	200 μl	200 μl
-----------	--------	--------	--------

Keverjük össze és öt perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciákat reagensvakkal vagy mintavakkal szemben

Munkareagens:

Keverje össze R1:R2=4:1 arányban a komponenseket.
Stabilitás: 4 hét 2-8°C-on

	vak	standard	minta
Munkareagens	1000 μl	1000 μl	1000 μl
desztillált víz	100 μl		
standard		100 μl	
minta			100 μl

Keverjük össze és öt perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciákat reagensvakkal szemben.

Kalibráció: (kolorimetriás módszerre, 37°C-on)

S1: Desztillált víz

S2: Vas standard Kat.: 51111 vagy Diagnosticum DunaCal vagy Randox Calibration Serum Level I, II

Ajánlott új kalibrációt végezni:

- új gyártási számú készlet felbontásakor,
- ahogy ezt a laboratórium belső minőségügyi rendszere előírja.

Az eredmény kiszámítása

$$\frac{A_{\text{minta}}}{A_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}} = C_{\text{minta}}$$

A = abszorbancia, C = koncentráció

Belső minőségellenőrzés

A minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű (egy normál és egy emelkedett) kontrollt javasolunk. A kontrollok mért értékeinek a gyártó által meghatározott tartományba kell esniük. Ha a tartományon kívül esnek az értékek, ajánlott korrigálni a méréseket. Ajánlott kontrollok: Diagnosticum DunaCont N (Katalógusszám: Dcon-N) és DunaCont P (Katalógusszám: Dcon-P)

A REAGENS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐI

A méréseket Olympus 600-as automatán végeztük (37°C). Átváltás: [μmol/l] = [μg/dl] / 5,59

Linearitás

A módszer 4 - 179 μmol/l (22,36 - 1000 μg/dl) vas koncentráció között lineáris.

Kimutatási határ 1,9 μmol/l (10,6 μg/dl)

Érzékenység

Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt az alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. A kézi mérés körülményei között 578 nm-en mért 0,001 abszorbanciaváltozás megegyezik 0,20 μmol/l (1,11 μg/dl) vas koncentrációval.

Precizitás

	Reprodukálhatóság		
	Átlag konc. (μmol/l)	SD	CV %
n=20			
1. minta	20,88	0,214	1,02
2. minta	36,09	0,753	2,09
Ismételhetőség			
n=20	Átlag konc. (μmol/l)	SD	CV %
1. minta	10,9	0,146	1,35
2. minta	27,9	0,334	1,20

Korreláció

Reagensünket összehasonlítottuk más gyártó vas reagensével.

A korrelációs regresszió adatai a következők:

korrelációs koefficiens: $r = 0,9971$

lineáris regresszió: $y (\mu\text{mol/l}) = 0,954x + 1,070$

(x = más gyártó reagens, y = saját reagens).

Szelektivitás










Hemoglobin 0,1 g/l-ig (1,6 μmol/l), bilirubin 0,43 g/l-ig (736 μmol/l), lipid 8 g/l-ig, glukóz 10 g/l-ig (55,5 mmol/l) aszkorbát 0,5 g/l-ig (2,84 mmol/l) nem befolyásolja a mérést.

Megjegyzés

Ne használja a reagent a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárat dátum eltelte után. A készítményeket, tesztoldatokat és reagenteket csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

Csak in vitro diagnosztikai használatra alkalmas.

A címkéken a következő szimbólumok lehetnek

-  In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
-  Gyártási szám
-  Gyártó
-  Kódszám
-  CE-jelölés
-  Tárolási irány
-  Tárolási hőmérséklet
-  Biológiai veszély
-  Lejárat idő (év/hónap)

Irodalom

Williams et al.: Clin. Chem., 23, 237 (1977)

Stookey L.: Anal. Chem., 42, 779 (1970)

Persijn et al.: Clin. Chim. Acta, 35, 91 (1971)

Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)

Cat. No.:	615635	615633	615634
Size:	10x25 ml	125 ml	600 ml
	(10x20ml+10x5ml)	(1x100ml+1x25ml)	(1x480ml+1x120ml)

Reagent kit for determination of iron concentration in serum. Colorimetric method.
Principle

At pH=4.8 and in presence of ascorbic acid, trivalent iron [Fe(III)] dissociated from the transferrin becomes reduced to divalent iron [Fe(II)] which forms a red complex with ferrozine. The absorbance read at 570 nm is proportional to the iron concentration of sample.

Reference values

Serum total iron:	Female:	6,6-26 µmol/l (37-145 µg/dl)
	Male:	11-28 µmol/l (59-158 µg/dl)
	Child:	9,0-21,5 µmol/l (50-120 µg/dl)

It is recommended that each laboratory should assign its own normal range. The reference value is influenced by the eating habits, sex, age, physical state, menstrual period, pregnancy, effects of environment.

Reagents
1.Reagent (R1)

Acetate buffer, pH=4.80	100 mmol/l
Guanidine	6 mmol/l
Thiourea	52.5 mmol/l
Reducing agent	

2.Reagent (R2)

Ferrozine	40 mmol/l
-----------	-----------

Safety instructions:
Reagent 1:

Warning. Contains Guanidine-hydrochloride. Harmful if swallowed. Causes serious eye irritation. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses if present and easy to do – continue rinsing.

Sample

Serum free of haemolysis. Chelating agents are not allowed to use for anticoagulant effect. Thiocarbamide eliminates the interference of copper ions. Stability: 1 week (2-8°C)

Stability of the reagents

Store the reagent protected from light. Store it between 2-8 °C.	
without opening:	till the expiry date indicated on the label
after opening:	30 days
calibration frequency:	7 days
onboard stability:	7-14 days
Stability data are valid only when using new system bottle!	

PROCEDURE

Preparation and stability

- **Working reagent:** mix 4 volume of R1 with 1 volume of R2. Stable for 2 weeks at 2-8°C
- **Two reagent:** the reagents are ready for use

Assay conditions:

Wavelength:	570 nm
Secondary wavelength:	600 nm
Temperature:	37 °C
Cuvette:	1 cm pathway
Method:	endpoint (increasing)
Reading against:	reagent blank

The reagents are ready to use

Method:
Two reagent procedure:

	blank	standard	sample
R1	800 µl	800 µl	800 µl
Distilled water	100 µl		
Standard		100 µl	
Sample			100 µl

Mix and incubate for 3 minutes

R2	200 µl	200 µl	200 µl
-----------	--------	--------	--------

Mix and read the absorbance (A) after a 5-minute incubation against reagent or sample blank.

Working reagent method:

	blank	standard	sample
Working reagent	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Distilled water	100 µl		
Standard		100 µl	
Sample			100 µl

Mix and read Absorbance (A) after 5 minutes incubation against reagent blank

Calibration: (37°C, colorimetric method)

- S1: Distilled water
- S2: Diagnosticum DunaCal Cat. No.: Dcal or Iron standard Cat. No.: 151111 or Randox Calibration Serum Level I, II

Calibration frequency

- Two point calibration is recommended
- after reagent lot change,
- as required following quality control procedures.

Calculation

$$\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}} = C_{\text{sample}}$$

A = absorbance, C = concentration

Quality control

A quality control program is recommended for all clinical laboratories. The analysis of control material in both the normal and abnormal ranges with each assay is recommended for monitoring the performance of the procedure. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits. Recommended controls: Diagnosticum DunaCont N (Cat. No.: Dcon-N) and DunaCont P (Cat. No.: Dcon-P)

PERFORMANCES DATA

The following data were obtained using the Olympus 600 analyzer (37°C). Conversion factor: [µmol/l]=[µg/dl]/5,59

Linearity

The method is linear between 4 - 179 µmol/l (22,36 – 1000 µg/dl).

Limit of detection 1,9 µmol/l (10,6 µg/dl)

Sensitivity

It is recommended that each laboratory establishes its own range of sensitivity as this is limited by the sensitivity of the spectrophotometer used. Under manual conditions however, a change of 0.001 Abs is equivalent to 0.20 µmol/l (1,11 µg/dl) iron concentration at 578 nm.

Precision

n=20	Reproducibility		
	Average conc. (µmol/l)	SD	CV%
Sample I.	20.9	0.214	1.02
Sample II.	36.1	0.753	2.09
n=20	Repeatability		
	Average conc. (µmol/l)	SD	CV%
Sample I.	10.9	0.146	1.35
Sample II.	27.9	0.334	1.20

Correlation

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial Iron ferrozine assay.

The results from these studies are detailed below.

Correlation coefficient: r=0.9971

Linear regression: y (µmol/l)= 0.954x+1.070

(x=other commercial reagent y= own reagent).

Specificity










Hemoglobin 1.6 µmol/l (10 mg/dl), bilirubin 736 µmol/l (43 mg/dl), lipid 800 mg/dl, glucose 55.5mmol/l (1000 mg/dl) and ascorbic acid 2.84 mmol/l (50 mg/dl) don't interfere with the assay up to the given levels.

Note

Haemolysis interferes with the test. Chelating compounds can not be used as anticoagulants. Thiourea prevents disturbing effects of copper ions.

Do not use reagents after the expiry date stated on each reagent container label. Do not use products, test solutions and reagents described above for any purpose other than described herein.

For in vitro diagnostic use only.
The following symbols can be used on the labels

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Manufacturer		Catalogue number
	CE-marking		This way up
	Temperature limitations		Biological risk
	Use by (year/month)		

Bibliography

Williams et al.: Clin. Chem., 23, 237 (1977)

Stookey L.: Anal. Chem., 42,779 (1970)

Persijn et al.: Clin. Chem. Acta, 35, 91 (1971)

Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)

