

1. 国際標準法 (ICSH, Br J Hematol 38 : 291, 1978)

原理 ICSH の標準法で、血清に還元剤のチオグリコール酸とトリクロロ酢酸(TCA)を加えて除蛋白し、その上清に BPT スルホン酸を加えて発色させ、比色する方法である。

試薬 ① 除蛋白試薬：TCA 98 g を精製水約 600 mL に溶解し、チオグリコール酸 30 mL と塩酸 83 mL を加えて混和し、精製水で 1 L とする。

② 発色試薬：1.5 M 酢酸ナトリウム 1 L に BPT スルホン酸（ドータイト）250 mg を加えて溶解する。

③ 標準液：1 mg/mL 標準液（積水メディカル）1 mL を精製水で希釈して 100 mL とし、さらにこれを精製水で 5 倍希釈して 200 μg/dL とする。

実施 ① 血清(A) 2.0 mL に等量の除蛋白試薬を添加し、ミキサーで十分に混和した後、56°C、15 分間加温後、再び混和してから遠心する。

② 上清 2.0 mL をとり、等量の発色試薬を加えてよく混和し、10 分間放置する。

③ 精製水(B) および標準液(S) についても血清と同様に処理する。ただし、遠心は不要。

④ 精製水を対照として、血清、標準液、ブランクの各反応液の 535 nm における吸光度を測定し、それぞれ EA, ES, EB とし、以下の計算式から血清 Fe 濃度を算出する。

$$\text{血清 Fe } (\mu\text{g/dL}) = [(EA - EB) / (ES - EB)] \times 200$$

2. 国際標準法の松原変法

松原法の原法は還元剤としてアスコルビン酸を用いた方法であるが、試薬の安定性、操作の煩雑性の面から改良が加えられ本法が確立された。本法の使用血清量は国際標準法の半分でありながら、それと同等の感度が得られる、より実用的な方法といえる。

試薬 ① 除蛋白試薬：TCA 75 g, 塩酸 42 mL, チオグリコール酸 15 mL を精製水に溶解して 1 L とする。

② 中和試薬：2.0 M 酢酸ナトリウム液

③ 発色試薬：1 g の BPT スルホン酸ナトリウムを 100 mL の精製水に溶解する。

実施 ① 血清 1.0 mL に除蛋白試薬 2.0 mL を添加し、ミキサーで十分混和し、5 分以上放置する。

② 3,000 rpm で 5 分間遠心した後、液面に浮上している蛋白の小塊を沈めるように液面付近を叩いてゆらししてから、再び 3,000 rpm で 15 分間遠心する。

③ 上清 2.0 mL に中和試薬 1.0 mL を加えた後、発色試薬 1 滴を加え 10 分間放置後 535 nm で比色する。試薬ブランク、標準液については、国際標準法に準じて行う。