

**HEMOGLOBIN
ХЕМОГЛОБИН****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ХЕМОГЛОБИН В КРЪВ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Хемоглобинът се окислява до метхемоглобин посредством феррицианид и метхемоглобинът се преобразува в стабилен цианметхемоглобин чрез добавяне на KCN. Измерва се абсорбцията на цианметхемоглобина при 540 nm и наситеността на цвета е пропорционална на концентрацията на хемоглобин.

РЕАГЕНТИ

След разтваряне според указанията на опаковката реагентът съдържа:

1. Hemoglobin Reagent

Potassium Ferricianide 0.5 mM

Potassium Cyanide 0.7 mM

стабилизатори и /wbe,r

2. Standard

Methemoglobin 60 mg/dl

разтворен в цианметхемоглобин реагент. Това количество е равно на 150 g/l хемоглобин. Стойностите на стандарта са проверени спрямо сертифициран стандарт на Колежа на американските патолози по отношение на концентрацията му и допълнително проверени спрямо известната моларна абсорбтивност на цианметхемоглобина.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реагентите са само за "ин витро" употреба. Избягвайте поглъщане, контакт с кожата и очите. Реагентът съдържа цианид, който е отрова и може да има фатални последици при поглъщане. НЕ ПИПЕТИРАЙТЕ С УСТА. Използвайте дестилирана или дейонизирана вода според указанията на опаковките. Третирайте пробите като потенциално заразни.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Съхранявайте реагента и стандарта при стайна температура. Не използвайте реагента, ако е друг цвят, а не жълт, ако има помътняване или се образува преципитация.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Трябва да се използва пълна кръв с EDTA за антикоагулант. Като антикоагуланти може да се използват и цитрат, оксалат или хепарин. Може да се използва капилярна или венозна кръв, ако се използва преди съсирване. Пълната кръв, смесена добре с антикоагуланти е стабилна една седмица при стайна температура.

ИНТЕРФЕРИРАЩИ СУБСТАНЦИИ

Вещества, които причиняват помътняване, могат да доведат до фалшиво високи стойности на хемоглобин. Такива са липиди, аномални плазмени протеини (макроглобулинемия) и еритроцитна тъкан. В литературата има изчерпателен списък на медикаментите, които упражняват "ин виво" ефект за понижаване на хемоглобина в кръвта.

ПРОЦЕДУРА ЗА МАНУАЛНА РАБОТА

1. Означете епруветките "Контроли", "Пациенти", "Сляпа проба" и т.н.
2. Пипетирайте 2.0 ml от реагента във всички епруветки.
3. Добавете 0.01 ml (10µl) от пробата към съответните епруветки, разбъркайте.
4. Оставете всички епруветки на стайна температура в продължение на 3 минути.
5. В епруветка означена като "Стандарт" пипетирайте 2.0 ml стандарт.
6. Нулирайте спектрофотометъра при 540 nm със сляпа проба. (дължина на вълната 520-550).
7. Отчетете и запишете абсорбцията на всички епруветки.

Забележки:

1. Ако спектрофотометърът изисква по-голямо крайно количество за точно отчитане, използвайте 0.02ml (20µl) от пробата към 4.0ml от реагента.

2. Крайният цвят е доста стабилен, но отчитането трябва да се направи до един час, за да не се получи изпарение.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Процедурата измерва хемоглобин и производните му с изключение на сулфхемоглобин.

Пробите със стойности над 200 g/l трябва да се тестват отново като се използва половината количество от пробата и резултатите да се умножат по 2.

РЕЗУЛТАТИ

(A= абсорбция)

$\frac{A(\text{пациент})}{A(\text{стандарт})} \times \text{Концентрация на стандарт} = \text{Стойност на пациент (g/l)}$

Пример:

A (пациент) = 0.480

A (стандарт) = 0.602

Концентрация на стандарт = 150 g/l

$0.480 \times 150 = 119 \text{ g/l}$

0.602

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Възрастни мъже 130 – 180 g/l

Възрастни жени 110 – 160 g/l

Деца 100 – 140 g/l

Новородени 140 – 230 g/l

Фактори като възраст, раса, физическо натоварване, сезон и географска ширина могат да повлияят на нормалните обхвати. Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой обхват от очаквани стойности.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Линейност: 200 g/l

2. Чувствителност: При резолюция на апарата A = 0.001, настоящата процедура има чувствителност от 0.3 g/l

Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с друг подобен метод, даде коефициент на корелация 0.98 и уравнение на регресията $y = 1.03x - 0.48$ за проби със стойности от 72 до 179 g/l (N = 20).

3. Точност:

В серия – Две проби от човешка кръв бяха изследвани 20 пъти

	Нормална	Аномална
Средна стойн. (g/l)	138	102
Станд. откл.	6	3
C.V.(%)	4.6	3.4

Между сериите – две проби от човешка кръв бяха изследвани 5 последователни дни

	Нормална	Аномална
Средна стойн. (g/l)	143	123
Станд. откл.	3	5
C.V.(%)	2.7	4.3

RE:04/02

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA **Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838**

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1