

HEMOGLOBINA

METODO DE LA CIANMETAHEMOGLOBINA

Para la determinación "in vitro" de Hemoglobina en sangre total

Principio

El Fe (II) de la Hemoglobina, oxihemoglobina y carboxi-hemoglobina es oxidado a Fe (III) por el ferricianuro, dando lugar a la metahemoglobina que, en presencia de ión cianuro, origina la cianmetahemoglobina, compuesto de color rojo y estable, que se puede determinar fotométricamente.

Reactivos

1 x 100 ml. (Ref. 99 60 23).

Reactivo de Drabkin **concentrado (1:10)**.

Añadir 900 ml. de agua desionizada.

Kit 3 x 100 ml. (Ref. 99 60 30). Contiene:

3 x 100 ml. Reac. **Drabkin conc.(1:10)** (Ref. 99 03 11)

Añadir 900 ml. de agua desionizada por 100 ml de reactivo concentrado.

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Ferricianuro potásico 0,5 mM

Cianuro potásico 0,8 mM

Conservantes y estabilizantes

Conservación y estabilidad

El reactivo, mantenidooa temperatura ambiente (15 - 25° C), es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Muestra

Sangre total heparinizada o con EDTA

Técnica	BL	PR
Muestra	--	0,02
Reactivo	5,00	5,00
Mezclar bien e incubar 10 min. a Temp. ambiente (20-25°C). Leer.		
Lectura		
Longitud de onda: Hg 546 nm; 540 nm.		
Blanco: el contenido del tubo BL.		
Estabilidad del color: 8 horas.		
Cálculos		
Con factor		
Abs muestra x 37 = g Hemoglobina / dL		
Unidades SI		
(g/dl) x 0,155 = mmol/L		
Valores normales		
Hombres: 13 - 18 g/dl		
Mujeres: 11 - 16 g/dl		

Precauciones

El reactivo contiene Cianuro que es venenoso; utilizar pipetas de seguridad. Manipular con precaución. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa legal vigente.

Técnica semimicro

Puede llevarse a cabo con la mitad de los volúmenes indicados anteriormente.

Prestaciones. Características de funcionamiento.

Linealidad: Hasta 25 g/dl de Hemoglobina.

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Coefficiente de Variación en la serie: 2,74%

Coefficiente de Variación entre series: 2,98%

Exactitud: 95,2 de porcentaje de recuperación.

Conversión de valores de Hemoglobina

g % Hb	100 % Hb = 16 g %	g % Hb	100% Hb = 16 g %
18,0	113,6	12,8	80,0
17,6	111,0	12,4	77,5
17,2	107,5	12,0	75,0
16,8	105,0	11,6	72,5
16,4	102,5	11,2	70,0
16,0	100,0	10,8	67,5
15,6	97,5	10,4	65,0
15,2	95,0	10,0	62,5
14,8	92,5	9,6	60,0
14,4	90,0	9,2	57,5
14,0	87,5	8,8	55,0
13,6	85,0	8,4	52,5
13,2	82,5	8,0	50,0

Notas

El valor del **factor de cálculo** se obtiene al aplicar la relación : $20\text{g/dl} / 0,545_{540\text{nm}}$

El valor de Abs. de 0,545 es el resultado que se obtendría después de procesar una muestra, en las condiciones indicadas en la metódica, con una concentración de 20 g /dL de Hemoglobina

Bibliografía

van Kampen, E.J., Zijlstra, W.G.(1961). Clin. Chim. Acta, **6**, 538-544.

International Committee for Standarization in Haematology (1978), J.Clin. Path., **31**, 139-143.

HEMOGLOBIN

CYANMETHAEMOGLOBIN METHOD

For "in vitro" determination of Hemoglobin in whole blood



Principle

Ferricyanide oxidizes the Fe(II) present in hemoglobin, oxyhemoglobin and carboxyhemoglobin, into Fe(III), giving rise to methaemoglobin which, in the presence of cyanide ion, produces cyanmethaemoglobin, a stable red compound that is photometrically determined.

Reagents

1 x 100 ml. (Ref. 99 60 23).

Concentrated (1:10) Drabkin's reagent . Add 900 ml of deionized water.

Kit 3 x 100 ml. (Ref. 99 60 30). Contents:

3x100 ml **Concentrated** (1:10) Drabkin's reagent. (Ref. 99 03 11)

Add 900 ml of deionized water to 100 ml of concentrated reagent

The reagent composition is:

Potassium ferricyanide	0.5 mM
Potassium cyanide	0.8 mM
Preservatives and stabilizers	

Storage and stability

The reagent, as well as the Standard, when kept at room temperature (15-25°C), will remain stable until the expiration date stated on the label.

Sample

Whole blood with Heparin or EDTA.

Procedure	BL	SA
	ml	ml
Sample	--	0.02
Reagent	5.00	5.00
	Mix and allow to stand 10 min. at room temperature (20-25°C). Read.	
Reading		
Wavelength: Hg 546 nm; 540 nm.		
Blank: the contents of BL.		
Colour stability: a minimum of 8 hours.		
Calculations		
Factor		
Abs sample x 37 = g Haemoglobin / dL		
SI Units		
(g/dl) x 0.155 = mmol/L		
Normal values		
Men: 13 - 18 g/dl		
Women: 11 - 16 g/dl		

Caution

The reagent contains Cyanide, it is poisonous. Security pipettes shall be used. Handle with care. The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

Semimicromethod

It can be carried out with half of the volumes above indicated.

Performances Characteristics

The assay is linear up to 25 g of Hemoglobin/dl.

The analytical performance characteristics of the product depend both of the reagent and the reading system used, manual or automatic. The following data have been obtained manually.

Intraseres Variation Coefficient: 2.74%

Interseries Variation Coefficient: 2.98%

Recovery: 95.2 %.

It is not necessary to read the absorbance of the Standard in every assay. Haemoglobin concentrations can be directly determined from the measure of the SA absorbance, multiplying it by the value of the ratio: ST concentration/ST absorbance, which should not change with time.

Hemoglobin percentages

g % Hb	100 % Hb = 16 g %	g % Hb	100 % Hb = 16 g %
18.0	113.6	12.8	80.0
17.6	111.0	12.4	77.5
17.2	107.5	12.0	75.0
16.8	105.0	11.6	72.5
16.4	102.5	11.2	70.0
16.0	100.0	10.8	67.5
15.6	97.5	10.4	65.0
15.2	95.0	10.0	62.5
14.8	92.5	9.6	60.0
14.4	90.0	9.2	57.5
14.0	87.5	8.8	55.0
13.6	85.0	8.4	52.5
13.2	82.5	8.0	50.0

Notes

The value of the Calculation Factor is obtained by :

$$20\text{g/dl} / 0.545_{540\text{nm}}$$

The Abs. at 540 nm of 0.545 is the value you could obtain after processing a 20 g /dL of Hemoglobin sample following the above described method.

References

van Kampen, E.J., Zijlstra, W.G.(1961). Clin. Chim. Acta, **6**, 538-544.

International Committee for Standardization in Haematology (1978), J.Clin. Path., **31**, 139-143.

