

HEMOGLOBIN 

REF 1134015

2 x 5 mL

## CONTENIDO

R1. Reactivo 2 x 5 mL

CAL. Patrón 1 x 1 mL

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

## HEMOGLOBINA

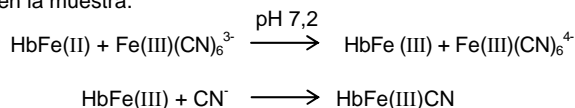
TOTAL

Método colorimétrico

PUNTO FINAL

## FUNDAMENTO

El Fe (II) de todas las formas de hemoglobina, con excepción de la sulfohemoglobina, es oxidado por el ferrocianuro a Fe(III) convirtiéndolas en metahemoglobina que, a la vez, reacciona con cianuro ionizado (CN<sup>-</sup>) formándose cianmetahemoglobina, un derivado muy estable que absorbe a 540 nm. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de hemoglobina total en la muestra.<sup>1</sup>



## COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

**R1** Reactivo Drabkin (50x). Modificado<sup>2</sup>. Ferricianuro potásico 30 mmol/L, cianuro potásico 38 mmol/L, fosfato monopotásico 50 mmol/L, tensoactivo 2,5% (p/v). X<sub>n</sub>

**CAL** Patrón de Hemoglobina. Hemoglobina 12 g/dL (7,5 mmol/L). Origen bovino. El valor de concentración es trazable al Material de Referencia Certificado CRM 522.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar Reactivo a 2-30°C.

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación durante su uso.

**Descartar si se observan signos de deterioro:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco (A) a 540 nm > 0,010 en cubeta de 1 cm.

## PREPARACION DE LOS REACTIVOS

**Reactivo de trabajo.**

Mediante una pipeta automática aspirar 5 mL de R1 y dispensarlos en un matraz aforado de 250 mL dirigiendo el flujo contra el cuello para minimizar la formación de espuma. Enrasar con agua destilada, tapar y mezclar por inversión. Estable como mínimo 6 meses a 15-25°C en frasco topacio de borosilicato.

Desechar el reactivo cuando presente signos de oscurecimiento o decoloración.

**PRECAUCIONES**

No pipetear con la boca.

Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas. En caso de contacto con el reactivo tratar el área afectada bajo un flujo abundante de agua corriente. Para los ojos solicitar además atención médica (Nota 1).

**TRATAMIENTO DE RESIDUO**

Tratar los residuos de acuerdo con las normativas locales (Nota 2).

**Patrón de hemoglobina.** Una vez abierto conservar a -20°C. Mezclar bien antes de su uso. (Nota 3).

## MUESTRAS

Sangre capilar o venosa. La sangre venosa debe anticoagularse con 1,5-1,8 mg de Na<sub>2</sub>EDTA por mL, mezclándola de inmediato. La hemoglobina es estable 1 semana a 2-8°C.

## INTERFERENCIAS

- Una concentración alta de lípidos puede elevar falsamente el valor de la hemoglobina en unos 3 g/dL, debido a la turbidez.
- Bilirrubina no interfiere.
- Cuando se emplea EDTAK<sub>3</sub> líquido como anticoagulante el contenido en hemoglobina puede disminuir un 0,5% por efecto de la dilución de la muestra.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir<sup>4</sup>.

## EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o colorímetro para mediciones a 540 ± 20 nm.
- Matraz calibrado de vidrio, 250 mL.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

## TECNICA

1. Pipetear en tubos rotulados:

TUBOS	Blanco	Muestra	CAL.Patrón
Reactivo de trabajo	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Muestra	-	10 µL	-
CAL.Patrón	-	-	10 µL

- Mezclar y reposar los tubos 3 minutos a temperatura ambiente.
- Leer la absorbancia (A) de la muestra y el patrón a 540 nm frente al blanco de reactivo.

El color es estable varias horas. Para períodos superiores a las 6 horas mantener los tubos refrigerados a 2-8°C.

## CALCULOS

Con Patrón:

$$\frac{A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}} \times C_{\text{patrón}} = \text{g/dL hemoglobina total}$$

Con Factor:  $A_{\text{Muestra}} \times 36,8 = C_{\text{Muestra}}$  (g/dL hemoglobina total)

Para expresar los resultados en unidades SI aplicar:  
g/dL x 0,621 = mmol/L

## CARACTERISTICAS ANALITICAS

### VALORES DE REFERENCIA<sup>3</sup>

Sangre total

Hombres	13,5 - 18,0 g/dL (8,4 - 11,2 mmol/L)
Mujeres	11,5 - 16,5 g/dL (7,1 - 10,2 mmol/L)
Recien nacidos	13,6 - 19,6 g/dL (8,4 - 12,2 mmol/L)
Niños, 6 meses	12,8 - 16,0 g/dL (8,0 - 10,0 mmol/L)
Niños, 1 año	11,0 - 13,0 g/dL (6,8 - 8,1 mmol/L)
Jóvenes, 14 años	11,5 - 14,8 g/dL (7,1 - 9,2 mmol/L)

La edad, la raza, el ejercicio, la época estacional y la altitud pueden influenciar estos valores.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

### CONTROL DE CALIDAD

El empleo de un calibrador para calcular los resultados permite obtener una exactitud independiente del sistema o instrumento empleado.

Para un control de calidad adecuado se incluirá en cada serie controles valorados (normal y abnormal) que se tratarán como muestras problema.

Si los resultados obtenidos se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y la técnica usada.

Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

### SIGNIFICADO CLINICO

La determinación de la concentración de hemoglobina total es indicativa de la capacidad de transporte de oxígeno y anhídrido carbónico de la sangre entre los pulmones y otros tejidos, siendo también importante como paso inicial en la detección de la anemia y la eritrocitosis.

La tasa de hemoglobina puede hallarse *disminuida* como consecuencia de una hemorragia, hemólisis o como resultado de un daño en la médula ósea que afecte la formación de hematíes. Por el contrario, la concentración de hemoglobina en sangre puede verse *incrementada* cuando el intercambio de gases a través de los pulmones se halla alterada, así como en otros diversos trastornos.

### NOTAS

1. La concentración en solución es tan baja que no representa ningún peligro significativo para el personal. La cantidad de cianuro presente en un litro de reactivo es apreciablemente inferior a la dosis letal mínima para una persona de 70 Kg de peso.
2. Al liberarse ácido cianhídrico por acidificación del reactivo de trabajo es preciso desechar los reactivos consumidos y las muestras diluyéndolas previamente en el fregadero con abundante agua corriente *no permitiendo nunca que entren en contacto con ácidos*.
3. **Homogeneizar el contenido del vial por agitación suave, evitando la formación de espuma. No sacudir.**
4. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

- **Limite detección:** 0,02 g/dL

- **Linealidad.** Hasta 20 g/dL

- **Precisión**

g/dL	Intraserial		Interserial	
	Media	15	24	15
DE	0,85	0,94	0,54	0,37
CV%	5,70	3,91	3,63	1,56
N	7	7	7	7

- **Sensibilidad.** 0,027 A / g/dL hemoglobina.

- **Correlación.** Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:

$$N = 50 \quad r = 0,98 \quad y = 1,06x - 0,67$$

Las características analíticas han sido generadas usando un instrumento automático. Los resultados pueden variar según el instrumento utilizado.

### REFERENCIAS

1. International Committee for Standardization in Haematology. Brit. J. Hlmat. 13 (Suppl.) : 71 (1967).
2. van Kampen, E.J. y Zijlstra, W.G. Clin. Chim. Acta. 6 : 538 (1961).
3. Makarem, A. in "Clinical Chemistry-Principles and Techniques". 2<sup>nd</sup> ed. R.F. Henry, D.C. Cannon, S.W. Winkelman, Editors. Harper and Row, Hagerstown (MD). p. 1128 (1974).
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.