

**REACTIVO DE HEMOGLOBINA****USO:**

Para la determinación cuantitativa de hemoglobina en sangre total.

**HISTORIA DEL METODO:**

Los métodos anteriores para la determinación de hemoglobina en sangre, estaban basados en las estimaciones de oxígeno o monóxido de carbono, o en el contenido del hierro. De todos los métodos solo el Cianometahemoglobina ha ganado pluralidad y aceptación oficial. La técnica general fué propuesta por Stodie en 1920, este método utilizó reactivos separados de ferrocianidad alcalina y de cianuro. En 1935 fué presentado un solo reactivo por Drabkin y Austin. En 1958 el consejo nacional de investigación (NRC) recomienda el uso del método de cianometahemoglobina basandose en investigaciones hechas por el departamento médico militar.

En 1966 el comité internacional de estandarizaciones en hematología aprobó la propuesta de que todos los laboratorios clinicos deben adoptar este método exclusivamente.

**PRINCIPIO:**

En un medio alcalino, el ferricianuro de potasio oxida la hemoglobina y sus derivados a metahemoglobina, la reacción subsiguiente tiene una absorción máxima a 540. La intensidad del color es proporcional a la concentración de hemoglobina.

**REACTIVOS:**

Ferricianuro de potasio 0.6 mM, Cianuro de Potasio 0.7 mM Buffer y estabilizadores.

**PRECAUCIONES:**

1. Contiene cianuro, veneno fatal si se hingiére, no pipeteé con la boca.
2. No mezcle con ácidos, lave con gran cantidad de agua.

**PREPARACION:**

Listo para usarse.

**ALMACEN DEL REACTIVO:**

Almacene en un bote ámbar a temperatura ambiente.

**DETERIORO DEL REACTIVO: NO USE SI:**

1. Tiene diferente color que amarillo.
2. Tiene turbiedad.

**COLECCION Y ALMACEN DE LA MUESTRA:**

1. Use sangre con EDTA como anticoagulante.
2. Oxalato Citrato o Heparina, también ser usado, como anticoagulante.
3. Se puede utilizar sangre venosa, si se utiliza antes de que se coagule.
4. La sangre mezclada con anticoagulante es estable por una semana a temperatura ambiente.

**INTERFERENCIAS:**

1. Las sustancias que causan turbiedad elevan falsamente los valores de hemoglobina. Estos incluyen lípidos, proteínas anormales en plasma (macroglobulina) o estroma citrocito.
2. Vea Young 10 para una lista de drogas que tienen un efecto disminuyendo la hemoglobina "In Vitro"

**MATERIAL:**

Reactivo de hemoglobina total.

**MATERIALES REQUERIDOS:**

1. Instrumentos precisos de pipeteo.
2. Reloj.
3. Tubos o gradilla.
4. Espectrofotómetro 540 nm.

**PROCEDIMIENTO (AUTOMATIZADO) A:**

Vea las instrucciones específicas del instrumento.

**PROCEDIMIENTO (MANUAL) M:**

1. Dispense 2.0 ml. de hemoglobina total en tubos etiquetados: blanco, control, paciente, etc.
2. Ponga 0.01 ml. (10 ul) de muestra en los tubos respectivos, mezcle.
3. Repóselos por tres minutos a temperatura ambiente.
4. En un tubo etiquetado standard ponga 2 ml. de standard.
5. Ponga en cero el espectrofotómetro a 540 nm (520-560 nm) con blanco de reactivo.
6. Lea los valores de absorbancia de todos los tubos.
7. Vea cálculos.

**NOTAS:**

1. El standard con que se calibre el procedimiento se debe preparar basado en los volúmenes de muestra y reactivo del proceso.
2. Para espectrofotómetros que requieren volúmenes mayores para lectura apropiada, use 4.0 ml. de reactivo y 0.02 ml. (20 ul) de muestra. Siga las instrucciones.

3. El color final es estable pero se recomienda leer antes de una hora para evitar evaporaciones.

#### **CALIBRACION:**

El estandard utilizado debe ser preparado en base a los volúmenes de muestra y reactivo usados en el procedimiento.

#### **CONTROL DE CALIDAD:**

La integridad de la reacción debe ser monitoreada con el uso de controles normal y anormal.

#### **CALCULOS:**

*Abs. Absorbancia.*

$\frac{Abs. Desconocida}{Abs. Standard} \times Concentracione Stanadr = Hemoglobina(g / dl).$

#### **LIMITES:**

1. Este procedimiento mide la hemoglobina y sus derivados excepto silfahemoglobina.
2. Los especímenes con valores sobre 200 (gr/dl) deben cerrarse de nuevo usando la mitad del volumen de muestra multiplique por 2.

#### **VALORES ESPERADOS:**

Varones adultos: 13.0-18.0 (gr/dl).

Hembras adultas: 11.0-16.0 (gr/dl).

Niños : 10.0-14.0 (gr/dl).

Recien nacidos : 14.0-23.0 (gr/dl).

Los factores como edad, raza, ejercicio, época y altitud influyen en los valores normales (rango).

#### **DESEMPEÑO:**

1. Linearidad 20.0 (gr/dl).
2. Estudios realizados contra otro procedimiento similar dieron como resultado un coeficiente de 0.992 con ecuación de regresión de  $y=0.985x+0.098$  en muestras con valores de 8.7 a 18.2 g/dl (n=27).
3. Precisión: Las pruebas en material control dieron un coeficiente de variación de 1.1% a 8.9 g/dl y 1.4 a 12.6 g/dl.

#### **REFERENCIAS:**

1. Stadle, W. C; Biol. Chem, 41:237 (1920)
2. Drabkin, D. L. Austin, J. H. JJ. Biol. Chem. 112.61 (1935).
3. Crosby, W. H. et al, US Amed. Forces Med., J5:693, (1954).
4. Crosby, W. H. et al, blood, 12:1132, (1957).
5. Eilets, R. J. Clin. Pathol 47:212 (1967).
6. Tietz N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry 2nd. ed, W.B. Saunder Co; Philadelphia, p 411 (1976)
7. Henry, R.F. el al Principles and technics in Clinical Chemistry 2nd. Ed. Harper y Row, Hagerstown, mdpp 1128-1135 (1974).
8. Green , p, et al AM. J. Clin CHem acta, 6:538, (1961)

9. Van Kampen, el al Cloin Cjem Acta (6538,(1961).
10. Young D.S, et al, Clin Chem 21:D (1957).
11. Wolf P. L. Practical Clinical Hemology, John Wiley y Sons NY, p 144(1973)



**DISTRIBUOTOR:**  
**MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.**  
8684 Ave. de la Fuente Ste. 14  
San Diego CA. 92154  
Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297  
www.mymssupply.com  
email: mail@mymssupply.com