

Best. Nr. HB 500 HB 2500
Inhalt: 500mL 2500mL

Methode
 Cyanmethämoglobin-Methode^{1,2)}

Probenmaterial
 Kapillarblut oder EDTA-Blut
 Kapillarblut sofort einsetzen. Venenblut kann bis zu 24 h bei +15°C bis +25°C aufbewahrt werden.

Reagenz
 Inhalt / Konzentrationen der gebrauchsfertigen Reagenz-lösung: Kaliumhexacyanoferrat (III) 0,6 mmol/L, Kaliumcyanid 0,7 mmol/L, Natriumhydrogencarbonat 18 mmol/L

Sicherheitshinweis
 Das Reagenz ist im Dunkeln aufbewahrt bei +15°C bis +25°C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar. Reagenz nicht einfrieren. Entfärbtes, trübes oder bräunlich verfärbtes Reagenz darf nicht verwendet werden.
 Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur Verfügung gestellt.³⁾

Lagerung und Haltbarkeit
 Das Reagenz ist im Dunkeln aufbewahrt bei +15°C bis +25°C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar. Reagenz nicht einfrieren. Entfärbtes, trübes oder bräunlich verfärbtes Reagenz darf nicht verwendet werden.

Messbedingungen
 Messgeräte: Photometer mit Küvettenaufnahme für Rechteckküvetten oder NP-Rundküvetten

Messwellenlängen: 546 nm oder 560 nm
 Temperatur: Raumtemperatur

Vorbereitung des Reagenzes
 Das Reagenz ist gebrauchsfertig.

Messbereich
 1,0 - 25 g/dL (0,6 - 15,5 mmol/L)

- Hinweise**
- Vor Kindern geschützt aufbewahren.
 - Bei der Gewinnung von Kapillarblut starkes Drücken der Fingerbeere vermeiden, da sonst eine Verdünnung des zu entnehmenden Blutes durch Gewebsflüssigkeit eintritt.
 - Küvetten mit trüber oder bräunlich verfärbter Reagenzlösung dürfen nicht verwendet werden.
 - Soll die Messung später als nach 3 Minuten erfolgen, müssen die Küvetten gut verschlossen aufbewahrt werden. Unter dieser Bedingung ist die Farbe ca. 30 Minuten stabil.

Arbeitsanleitung - Messung in Rechteckküvetten

In ein Reagenzglas pipettieren:	
	Analyse
Transformationslösung Blut	5,0 mL 0,02 mL
Kapillare mit Reagenzlösung ausspülen. Gut mischen. In Rechteckküvetten umgießen. Nach frühestens 3 Minuten Analyse gegen dest. Wasser messen.	

Arbeitsanleitung - Messung in NP-Rundküvetten

In NP-Küvette pipettieren:	
	Analyse
Transformationslösung Blut	5,0 mL 0,02 mL
Kapillare mit Reagenzlösung ausspülen. Gut mischen. Nach frühestens 3 Minuten Analyse gegen dest. Wasser messen.	

Berechnung

Hämoglobin-Konz. im Blut: $c = \text{Faktor} \times \text{Ext}$

Messwellenlänge	Faktor	
	F[g/dL]	F[mmol/L]
546 nm	36,8	22,8
560 nm (Rechteckküvette)	42,9	26,6
560 nm (NP-Rundküvette)	23,8	14,8

Qualitätssicherung

Zur Qualitätssicherung empfehlen wir unsere Hämoglobin-Kontrolle **HEM QS**, Hämolyt für die Richtigkeits- und Präzisionskontrolle der Hämoglobinbestimmung im normalen Bereich.

Referenzwerte

	g/dL	mmol/L
Frauen	12 - 16	7,45 - 9,93
Männer	14 - 18	8,69 - 11,2
Neugeborene	16 - 25	9,93 - 15,5
Säuglinge	10 - 15	6,21 - 9,31
Kleinkinder	11 - 14	6,83 - 8,69
Kinder	12 - 16	7,45 - 9,93

Zusammenfassung^{2,4)}

Der rote Blutfarbstoff, Hämoglobin (Abkürzung: Hb) ist ein eisenhaltiges Protein, das für den Sauerstofftransport im Blut verantwortlich ist. Es besteht aus einem Globulinanteil und der prosthetischen Hämgruppe. Neben den beiden Hauptfraktionen (Oxy- und Deoxyhämoglobin) finden sich im Blut weitere Hb-Derivate mit veränderter Häm-Gruppe (COHb, MetHb) oder von der Norm abweichendem Globulinanteil (HbA1, HbF).

Indikationen / Diagnostische Bedeutung:

- Erkennung einer Anämie oder Polyglobulie
- Verlaufs- und Therapiekontrolle von Anämien und Polyglobulien
- Überwachung von Risikogruppen für Eisenmangel (Schwangere, Kleinkinder, Blutspender, Hämodialysepatienten, Sportlerinnen)

Erniedrigte, außerhalb des Referenzbereiches liegende Hb-Werte werden dem Krankheitsbild der Anämie zugeordnet und finden sich u.a. bei chronischen Blutverlusten, nicht gedecktem Eisenmehrbedarf, Eisenverwertungsstörung, Intoxikationen sowie einer Reihe von Tumorerkrankungen. Typische Symptome sind Müdigkeit und Leistungsmin- derung. Akute massive Blutungen führen zumeist erst nach 12 bis 24 Stunden zu einem deutlichen Abfall des Hb-Wertes.

Das Gesamt-Hämoglobin gehört zu den klassischen Parametern des POCT (point of care testing), die mittels Kleinphotometern in Arztpraxen bestimmt werden.

Messprinzip

Unter den verschiedenen Bestimmungsmethoden hat sich die Cyanmethämoglobin-Methode (auch als Cyanhämoglobin-Methode bezeichnet) durchgesetzt und den Status einer internationalen Referenzmethode erlangt.^{5,6)} Die Konzentrationen der wirksamen Bestandteile des Reagenzes sind u.a. in einer DIN-Norm festgelegt.⁶⁾

Durch Lyse der Erythrocytenmembran wird Hämoglobin in die Reaktionslösung übergeführt, mit Kaliumhexacyanoferrat (III) zu Methämoglobin oxidiert und mit Cyanid in Cyanmethämoglobin umgewandelt. Die Farbintensität des Cyanmethämoglobins ist der Hämoglobin-Konzentration in der Probe proportional und wird photometrisch gemessen.

Leistungsmerkmale

Spezifität / Interferenzen

Die physiologisch aktiven Hb-Abkömmlinge (COHb, MetHb etc.) werden bei der Bestimmung mit erfasst. Stark lipämische Proben können den Test stören und zu hohe Hb-Werte vortäuschen.⁴⁾

Unpräzision

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Human- und Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 20]	Mittelwert [g/dL]	Standard-Abweichung [g/dL]	VK [%]
Probe 1	5,8	0,07	1,1
Probe 2	11,8	0,12	1,0
Probe 3	16,8	0,17	1,0
Von Tag zu Tag [n = 20]	Mittelwert [g/dL]	Standard-Abweichung [g/dL]	VK [%]
Probe 1	5,9	0,09	1,5
Probe 2	11,9	0,13	1,1
Probe 3	16,9	0,20	1,2

Analytische Sensitivität

Untere Nachweisgrenze: 1,0 g/dL (0,6 mmol/L)

Methodenvergleich

Ein Vergleich des Diaglobal-Tests HB 500 (y) mit einem anderen kommerziell erhältlichen Test (x) ergab nach dem Verfahren von Passing/Bablok⁷⁾ die Korrelation:

$$y = 1,041x - 0,19$$

$$r = 0,994$$

n = 37

Konzentrationsbereich: 6,5 - 20,8 g/dL

Literatur

1. Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 597, 401
2. Rick W. Klinische Chemie und Mikroskopie. 6.Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 1972: 115
3. <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
4. Int. Committee for Standardisation in Haematology (ICSH), Brit. J. Haemat. 1967; 13:71
5. CCLS – Approved Standard H 15-A, 1984; Vol. 4 No.3 Reference procedure for the quantitative determination of hemoglobin in blood.
6. DIN 58931. Bestimmung der Hämoglobinkonzentration im Blut – Referenzmethode
7. Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-720

Order No. HB 500 HB 2500
Contents: 500mL 2500mL

Method
 Cyan methaemoglobin method^{1,2)}

Sample material
 Capillary blood or EDTA blood
 Use capillary blood immediately. Venous blood can be kept for up to 24 hours at +15°C to +25 °C.

Reagent
 Contents / concentrations of ready-to-use reagent solution:
 Potassium hexacyanoferrate (III) 0.6 mmol/L, Potassium cyanide 0.7 mmol/L, Sodium hydrogencarbonate 18 mmol/L

Safety information
 The reagent is in compliance with CLP-Regulation (EC) classified as hazardous mixture. The reagent solution contains indeed very toxic potassium cyanide, which, however, is considered as not being dangerous due to its extreme low concentration (0.006 %).
 If desired a safety data sheet will be provided.³⁾

Storage and shelf life
 The reagent can be kept in a dark place at a temperature between +15°C and +25°C until the expiry date indicated on the packaging.
 Do not freeze the reagent.

Measurement conditions
Measurement devices: Photometer for rectangular or NP round cuvettes
Meas. wavelengths: 546nm or 560nm
Temperature: Room temperature

Measurement range
 1.0 - 25 g/dL (0.6 - 15.5 mmol/L)

- Tips**
- Store safely away from children.
 - When extracting capillary blood, avoid pressing the finger pulp too hard because otherwise the blood to be extracted is thinned-out by tissue fluid.
 - Cuvettes with a turbid or brownish stained reagent solution cannot be used.
 - If measurement is performed later than after three minutes, the cuvettes must be kept well sealed. Under this condition the colour remains stable for several hours.

Working instructions - Rectangular cuvettes

Pipette into test tube:	
	Analysis
Transformation solution	5.0 mL
Blood	0.02 mL
Wash out the capillary with reagent solution. Mix thoroughly and put into rectangular cuvette. Measure at the earliest after 3 min. against dest. water.	

Working instructions - NP round cuvettes

Pipette into NP round cuvette:	
	Analysis
Transformation solution	5.0 mL
Blood	0.02 mL
Wash out the capillary with reagent solution. Mix thoroughly. Measure at the earliest after 3 min. against dest. water.	

Calculation
 Haemoglobin conc. in blood: $c = \text{Factor} \times \text{Abs.}$

Wavelength	Factor	
	F[g/dL]	F[mmol/L]
546 nm	36.8	22.8
560 nm (Rectangular cuvettes)	42.9	26.6
560 nm (NP round cuvettes)	23.8	14.8

Quality assurance
 For quality assurance we recommend our haemoglobin control **HEM QS**, haemolysate for accuracy and precision control for determination of haemoglobin in normal range.

Reference values

	g/dL	mmol/L
Women	12 - 16	7.45 - 9.93
Men	14 - 18	8.69 - 11.2
Newborn	16 - 25	9.93 - 15.5
Babies	10 - 15	6.21 - 9.31
Toddlers	11 - 14	6.83 - 8.69
Children	12 - 16	7.45 - 9.93

Summary^{2,4)}
 The red blood pigment, haemoglobin (abbreviated Hb) is a protein with iron content which is responsible for the transportation of oxygen in the bloodstream. It consists partly of globulin and the prosthetic haemolysis group. In addition to both major fractions (oxygenated haemoglobin and de-oxygenated haemoglobin), further Hb derivates with a changed haemolysis group (COHb, MetHb) or globulin contents which vary from the standard globulin share (HbA1, HbF) are in the blood.

- Indications / diagnostic significance:
- Recognition of anaemia or hyperglobulia
 - Follow-up and therapeutic controls for anaemia or hyperglobulia
 - Monitoring risk groups for iron deficiency (pregnant women, toddlers, blood donors, haemodialysis patients, sportswomen)

Low HB counts which are not within the reference range are classified as belonging to the symptoms of anaemia and also occur after chronic loss of blood, insufficiently fulfilled additional iron requirements, iron use disorders, intoxication and an array of tumour diseases. Typical symptoms include tiredness and drop in performance. Acute massive haemorrhages normally lead to a considerable drop in the Hb count.

Haemoglobin as a whole is one of the classical POCT (point of care testing) parameters and can be determined in doctors' surgeries using small photometers.

Measurement principle
 Amongst the various determination methods, the cyan methaemoglobin method (also referred to as cyan haemoglobin method) has prevailed and achieved the status of an international reference method^{5,6)}. The concentrations of the reagent's operative elements are defined in a DIN standard⁶⁾.

Through lysis of the erythrocyte membrane, haemoglobin is transferred into the reaction solution, oxidised in methaemoglobin with potassium hexacyanoferrate (III), and converted into cyan methaemoglobin with cyanide. The colour intensity of the cyan methaemoglobin is proportional to the haemoglobin concentration in the sample and is measured photometrically.

Performance parameters

Specificity / interferences
 The physiologically active Hb derivatives (COHb, MetHb etc.) are also registered upon determination. Highly lipaemic samples may disturb the test and falsify HB values which are too high.⁴⁾

Inaccuracy
 The reproducibility was checked using human and control samples.

In series [n = 20]	Average [g/dL]	Standard deviation [g/dL]	VK [%]
Sample 1	5.8	0.07	1.1
Sample 2	11.8	0.12	1.0
Sample 3	16.8	0.17	1.0
From day to day [n = 20]	Average [g/dL]	Standard deviation [g/dL]	VK [%]
Sample 1	5.9	0.09	1.5
Sample 2	11.9	0.13	1.1
Sample 3	16.9	0.20	1.2

Analytic sensitiveness
 Lower detection limit: 1.0 g/dL (0,6 mmol/L)

Comparison of methods
 A comparison of the Diaglobal test HB 500/2500 (y) with a commercially available test (x) resulted in the following correlation according to the Passing/Bablok⁷⁾ process:
 $y = 1.041x - 0.19$
 $r = 0.994$

n = 37
 Concentration range: 6.5 - 20.8 g/dL

Bibliography

1. Thomas L. Labor und Diagnose. 4th edition. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 597, 401
2. Rick W. Klinische Chemie und Mikroskopie. 6th edition. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 1972: 115
3. <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
4. Int. Committee for Standardisation in Haematology (ICSH), Brit. J. Haemat. 1967; 13:71
5. CCLS – Approved Standard H 15-A, 1984; Vol. 4 No.3 Reference procedure for the quantitative determination of hemoglobin in blood.
6. DIN 58931. Bestimmung der Hämoglobinkonzentration im Blut – Referenzmethode
7. Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-720