

Best. Nr. HB 040
Inhalt: 40 Tests
 40 Kapillaren á 5 µL

Methode
 Cyanmethämoglobin-Methode

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

Reagenz
 Inhalt / Konzentrationen:
 Reagenzlösung (vorportioniert in Eckküvetten)
 Kaliumhexacyanoferrat (III) 0,6 mmol/L
 Kaliumcyanid 0,7 mmol/L
 Natriumhydrogencarbonat 18 mmol/L

Sicherheitshinweis
 Das Reagenz ist gemäß CLP-Verordnung (EG) nicht als gefährliches Gemisch eingestuft. Die Reagenzlösung enthält zwar hochgiftiges Kaliumcyanid, das jedoch aufgrund der äußerst geringen Konzentration (0,006 %) als nicht gefährlich angesehen wird.
 Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur Verfügung gestellt.¹⁾

Lagerung und Haltbarkeit
 Die verschweißten Packungen sind bei +2°C bis +25°C bis zum aufgedruckten Verfalldatum haltbar.
 Küvetten geöffneter Blisterpackungen bleiben bei Raumtemperatur 24 Stunden, bei Kühlagerung (+4°C bis +8°C) 8 Tage gebrauchsfähig.
 Gekühlte Küvetten sollen vor Gebrauch langsam auf Raumtemperatur gebracht werden. Das dabei entstehende Kondenswasser verdampfen lassen; nicht die Messflächen abwischen!
Wichtig: Küvetten nicht einfrieren und stets lichtgeschützt aufbewahren!

Messbedingungen
 Messgerät: Compur Minilab Photometer
 Temperatur: Raumtemperatur

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

Arbeitsanleitung
 1. Blisterpackung aufreißen
Achtung: Küvette nur am Stopfen oder an der geriffelten Fläche anfassen!
 2. Küvette öffnen
 3. Fingerbeere anstechen
 4. Kapillare aus Kapillarenspender entnehmen
 5. Kapillare füllen (waagrecht ansetzen)
 6. Kapillare in Küvette einbringen; am Kapillarrand anhängende Blutreste an der Fingerbeere vorher abstreifen
 7. Küvette mit Stopfen verschließen
 8. Inhalt sofort vermischen, Kapillare muss in einer Ecke der Küvette haften
 Küvette nach 1 Minute messbereit
Achtung: An der glatten Fläche der Küvette dürfen sich keine Luftbläschen befinden!

Messung am Photometer
 Ausführliche Anleitungen zur Probenverarbeitung und Testdurchführung sind in der Gerätebedienungsanleitung des jeweiligen Minilab Photometers enthalten.
Achtung: Die geriffelte Fläche der Küvette muss immer in Richtung Bearbeiter zeigen. Die glatten Flächen zeigen nach links und rechts.
 Die Testergebnisse werden in g/dL angezeigt.

Qualitätssicherung
 Zur Qualitätssicherung empfehlen wir unsere Hämoglobin-Kontrolle **HEM QS**, Hämolsat 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

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.

Zusammenfassung^{2,3)}
 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 Leistungsminderung.

Messprinzip
 Unter den verschiedenen Bestimmungsmethoden hat sich die Cyanmethämoglobin-Methode (auch als Cyanhämoglobin-Methode bezeichnet) durchgesetzt und den Status einer internationalen Referenzmethode erlangt.^{4,5)} 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.³⁾

Unpräzision
 Die Reproduzierbarkeit wurde mit Human- und Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 20]	Mittelwert [g/dL]	Standard-Abweichung [g/dL]	VK [%]
Probe 1	5,50	0,10	1,9
Probe 2	11,4	0,13	1,1
Probe 3	16,2	0,12	0,8

Von Tag zu Tag [n = 20]	Mittelwert [g/dL]	Standard-Abweichung [g/dL]	VK [%]
Probe 1	5,60	0,11	2,0
Probe 2	11,6	0,16	1,4
Probe 3	16,3	0,19	1,2

Analytische Sensitivität
 Untere Nachweisgrenze: 1,0 g/dL

Methodenvergleich
 Ein Vergleich des Diaglobal-Tests HB 040 (y) mit einem anderen kommerziell erhältlichen Test (x) ergab nach dem Verfahren von Passing/Bablok⁷⁾ die Korrelation:
 $y = 1,011x - 0,298$
 $r = 0,995$
 n = 28, Konzentrationsbereich: 5,1 - 21 g/dL

Literatur

1. <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
2. Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 597, 401
3. Rick W. Klinische Chemie und Mikroskopie. 6.Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 1972: 115
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 040
Contents: 40 tests
 40 capillaries à 5 µL

Method
 Cyan methaemoglobin method

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:
 Reagent solution (pre-portioned in square cuvettes)
 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.¹⁾

Storage and shelf life
 The reagent in aluminium packet can be kept in a dark place at a temperature between +15°C and +25°C until the expiry date indicated on the packaging. When the aluminium packet is open, cuvettes can be used for 24 hours, in case of storage at (+4°C...+8°C) for 8 days.
 Do not freeze the reagent and save the cuvettes from light.

Measurement conditions
 Measurement device: Compur Minilab Photometer
 Temperature: Room temperature

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

Working instructions
 1. Open the aluminium packet
Caution: Touch the cuvette only at the opaque sides !
 2. Open the cuvette
 3. Prick the fingertip
 4. Take out one capillary from the capillary tube
 5. Fill the capillary with blood
 6. Put the capillary into the cuvette
 7. Close the cuvette with the stopper
 8. Mix thoroughly, capillary has to cling to one of the cuvette's corner
 Measure after one minute
Caution: Avoid air bubbles at the transparent sides of the cuvette !

Measurement with the photometer
Caution: The opaque side of the cuvette has to point in direction of the user. The transparent sides point in left or right direction.

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

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.

Summary^{2,3)}
 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 deoxygenated 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.

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^{4,5)}. The concentrations of the reagent's operative elements are defined in a DIN standard⁶⁾.

Through lysis of the erythrocyte membrane, haemo-globin 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.³⁾

Inaccuracy
 The reproducibility was checked using human and control samples.

In series [n = 20]	Average [g/dL]	Standard deviation [g/dL]	VK [%]
Sample 1	5.50	0.10	1.9
Sample 2	11.4	0.13	1.1
Sample 3	16.2	0.12	0.8
From day to day [n = 20]	Average [g/dL]	Standard deviation [g/dL]	VK [%]
Sample 1	5.60	0.11	2.0
Sample 2	11.6	0.16	1.4
Sample 3	16.3	0.19	1.2

Analytic sensitiveness
 Lower detection limit: 1.0 g/dL

Comparison of methods
 Comparison of the Diaglobal test HB 040 (y) with a commercially available test (x) resulted in the following correlation according to the Passing/Bablok⁷⁾ process:
 $y = 1.011x - 0.298$
 $r = 0.995$
 n = 28, concentration range: 5.1 - 21 g/dL

Bibliography

- http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html
- Thomas L. Labor und Diagnose. 4th edition. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 597, 401
- Rick W. Klinische Chemie und Mikroskopie. 6th edition. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 1972: 115
- Int. Committee for Standardisation in Haematology (ICSH), Brit. J. Haemat. 1967; 13:71
- CCLS – Approved Standard H 15-A, 1984; Vol. 4 No.3 Reference procedure for the quantitative determination of hemoglobin in blood.
- DIN 58931. Bestimmung der Hämoglobinkonzentration im Blut – Referenzmethode
- 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