

HEMOGLOBINE 

REF 1134015

2 x 5 mL

CONTENU

Réactif R1. 2 x 5 mL

CAL. Standard 1 x 1 mL

Uniquement pour diagnostic in vitro

HEMOGLOBINE

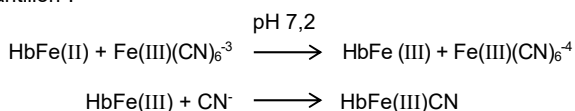
TOTAL

Méthode Colorimétrique

POINT FINAL

PRINCIPE


Le Fer Fe (II) de toutes les formes d'hémoglobine, à l'exception de la sulfhémoglobine, est oxydé en fer Fe(III) de la méthémoglobine qui, à son tour, réagit avec le cyanure ionisé (CN⁻) pour former la cyanmethémoglobine, un dérivé stable qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration produite est proportionnelle à la concentration de l'hémoglobine totale de l'échantillon¹.



COMPOSITION DES REACTIFS

- R1** Réactif de Drabkin (50x). Modifié². Ferricyanure de Potassium 30 mmol/L, Cyanure de potassium 38 mmol/L, potassium hydrogène phosphate 50 mmol/L, Tensio-actif 2,5% (w/v). X_n
- CAL** Standard Hémoglobine. Hémoglobine 12 g/dL (7,5 mmol/L). Origine Bovine. La valeur de la concentration est traçable au Matériel Standard de Référence CRM 522.

CONSERVATION DES REACTIFS

 Conserver à 2-8 °C.
Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date.
Pendant l'usage, conserver les flacons hermétiquement fermés, protégés de la lumière et hors des contaminations pendant l'usage.

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration:

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Absorbance du blanc réactif (A) à 540 nm > 0,010 dans une cuve de 1 cm d'épaisseur.

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif de travail:

Par la pipette automatique retirer 5 ml de R1 et délivrer le contenu dans un flacon étalonné volumétrique de 250 ml qui laisse le courant glisser le long du cou pour minimiser l'émoussement. Ajoutez de l'eau distillée jusqu'à la marque, fermer et mélanger par retournement. Stable au moins pendant 6 mois à 15-25°C quand il est stocké dans une bouteille ombrée en verre de borosilicate hermétiquement fermée.

Se débarrasser du réactif s'il est foncé ou décoloré.

PRÉCAUTIONS

Ne pas pipeter par la bouche.

Éviter tout contact avec la peau ou les membranes muqueuses. En cas de contact avec le réactif arroser la région affectée avec des quantités copieuses d'eau. Suivre les recommandations médicales pour les yeux (Note 1).

GESTION DES DÉCHETS

Se débarrasser de réactifs conformément à règlements locaux (Note 2).

Standard hémoglobine. Une fois ouvert stocker à -20°C. Mélanger bien avant usage (Note 3).

ECHANTILLONS

Sang capillaire ou veineux. Le sang veineux devrait être anticoagulé avec 1,5-1,8 mg de Na₂EDTA par ml de sang et mélangé immédiatement. L'hémoglobine est stable pendant 1 semaine à 2-8°C.

INTERFERENCES

- Une lipémie importante ou une grande quantité de lipoprotéines peuvent faussement élever la valeur de l'hémoglobine jusqu'à 3 g/dL, à cause de la turbidité.
- La Bilirubine n'interfère pas.
- Quand le K₃EDTA liquide est utilisé comme anticoagulant le contenu de l'hémoglobine peut être jusqu'à 0,5% bas à cause de dilution de l'échantillon du sang.
- Les autres drogues et substances peuvent interférer⁴.

MATERIEL AUXILLIAIRE

- Photomètre ou colorimètre capable de mesurer l'absorbance à 540 ± 20 nm.
- Flacon en verre calibré à 250 ml.
- Pipettes pour distribution de réactif et échantillons.

PROCEDURE

1. Pipeter dans les tubes étiquetés:

TUBES	Blanc	Echantillon	Standard CAL.
Réactif de travail	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Echantillon	-	10 µL	-
Standard CAL.	-	-	10 µL

2. Mélanger et laisser les tubes pendant 3 minutes à température de laboratoire.
3. Lire l'absorbance (A) des échantillons et du standard à 540 nm contre le blanc réactif.

La couleur est stable pendant plusieurs heures. Pour un stockage au-delà de 6 heures garder à 2-8°C.



CALCULS

Avec le Standard:

$$\frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Standard}}} \times C_{\text{Standard}} = \text{g/dL d'hémoglobine totale}$$

Avec le Facteur : $A_{\text{Echantillon}} \times 36,8 = C_{\text{Echantillon}}$ (g/dL d'hémoglobine totale).

Pour exprimer les résultats en unités du SI, appliquer:
g/dL x 0,621 = mmol/L

VALEURS DE REFERENCE ³

Sang totale:

Hommes	13,5 – 18,0 g/dL (8,4 – 11,2 mmol/L)
Femmes	11,5 – 16,5 g/dL (7,1 – 10,2 mmol/L)
N.nés (sang du cordon)	13,6 – 19,6 g/dL (8,4 – 12,2 mmol/L)
Nourrissons, 6 mois	12,8 – 16,0 g/dL (8,0 – 10,0 mmol/L)
Nourrissons, 1an	11,0 – 13,0 g/dL (6,8 – 8,1 mmol/L)
Enfants, 14 ans	11,5 – 14,8 g/dL (7,1 – 9,2 mmol/L)

L'âge, la race, l'exercice physique, les saisons et l'altitude peuvent influencer les valeurs de la gamme normale.

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs de référence.

CONTROLE DE QUALITE

L'usage d'un standard pour calculer les résultats permet d'obtenir une précision indépendante du système ou de l'instrument utilisé.

Pour assurer un contrôle de qualité (QC) approprié, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles (normal et anormal), traités comme ayant des valeurs inconnues.

Si les valeurs sont en dehors de la plage définie, vérifiez l'instrument, les réactifs et la procédure.

Chaque laboratoire doit établir ses propres plans de contrôle de qualité interne et les mesures correctives, au où les résultats des contrôles sont hors des tolérances acceptables.

INTERPRETATION CLINIQUE

La détermination de la concentration totale de l'hémoglobine est indicative de la capacité de transport de l'oxygène et du dioxyde de carbone entre les poumons et les autres tissus, mais aussi une étape initiale importante dans la découverte d'une anémie et de l'érythrocytose.

La concentration d'hémoglobine dans le sang peut être diminuée par suite d'hémorragies ou d'hémolyse ou par suite de la baisse de production de sang dans la moelle osseuse. Inversement, la concentration d'hémoglobine dans le sang peut être augmentée quand les échanges des gaz à travers les poumons sont affaiblis ou dans plusieurs autres maladies.

NOTES

1. La concentration de cyanure de potassium dans la solution est si basse qu'elle ne constitue pas de considérable danger au personnel. La quantité présente dans un litre de réactif est sensiblement plus petite que la dose mortelle minimum pour un être humain de 70 Kgs.
2. Depuis que le cyanure d'hydrogène est libéré par acidification du réactif de travail, éviter d'épandre les réactifs et les échantillons dans eau courante de l'évier et ne favoriser jamais son contact avec l'acide.
3. **Homogénéiser le contenu du flacon en retournant doucement, évitant ainsi la formation de mousse. Ne secouer pas.**
4. Le diagnostic clinique ne devrait pas se limiter sur les seuls résultats du test, mais intégrer corrélativement les données cliniques et de laboratoire.

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES

- **Limite de Détection** : 0,02 g/dL

- **Linéarité** : Jusqu'à 20 g/dL

- **Precision**:

g/dL	Intra série		Inter série	
	15	24	15	24
Moyenne	0,85	0,94	0,54	0,37
SD	5,70	3,91	3,63	1,56
N	7	7	7	7

- **Sensibilité** : 0,027 A / g/dL d'hémoglobine.

- **Corrélation**: Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus:

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

Ces caractéristiques analytiques ont été obtenues en utilisant des équipements automatiques. Les résultats peuvent varier en fonction de l'équipement.

REFERENCES

1. International Committee for Standardization in Haematology. Brit. J. Haemat. 13 (Suppl.) : 71 (1967).
2. van Kampen, E.J. and Zijlstra, W.G. Clin. Chim. Acta. 6 : 538 (1961).
3. Makarem, A. in "Clinical Chemistry-Principles and Techniques". 2nd 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.

