



freies Hämoglobin (fHb)

Cyanhämglobin-Methode

2-Wellenlängen-Methode (540/680 nm) nach Tapernon

© Copyright by Bioanalytic GmbH (1/3)

Produktinformation fHb (freies Hämoglobin) nach Tapernon

2024-09-10

(de)

004001-PR02

Zweckbestimmung

Das Produkt "freies Hämoglobin (fHb) - Tapernon" wird zur spektralphotometrischen Bestimmung des freien Hämoglobins im Blut(-Plasma) oder im Erythrozytenkonzentrat(-Überstand) mit der Cyanhämglobin-Methode, 2-Wellenlängen-Methode nach Tapernon verwendet. Das Reagenz ist für alle Fotometer mit 540/680 nm geeignet.

Prinzip

Freies Hämoglobin tritt im Blut-Plasma z. B. durch hämolytische Anämien, v. a. durch hämolytische Transfusionsreaktionen auf.

Für die Qualität von Erythrozytenkonzentraten (EK) stellt das freie Hämoglobin ein Parameter dar, welcher Grundlage zur Berechnung der Hämolyserate des Erythrozytenkonzentrates ist.

Im Plasma bzw. EK-Überstand enthaltene Hämoglobinderivate (außer Verdoglobin) werden durch die Hämoglobin-Reaktionslösung quantitativ in Hämglobincyanid umgewandelt. Die Reaktionszeit ist nach 3 Minuten beendet. Der gebildete Farbstoff ist sehr beständig und wird im Fotometer gemessen.

Zur Kompensation von Trübungen (z. B. durch Reste von Erythrozytenmembranen) wird empfohlen, die 2-Wellenlängen-Methode anzuwenden.

Reagenzien

Das Reagenz ist gebrauchsfertig und bei +15...+25 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die Flasche ist stets gut geschlossen und nach dem Öffnen kontaminationsfrei halten. Das Reagenz vor Frost, sowie vor direkter Lichteinstrahlung (Sonne, UV-Licht) geschützt lagern.

Gefahren und Sicherheit

Beachten Sie die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen im Gebrauch von Laborreagenzien und Körperflüssigkeiten. Der Umgang sollte durch sachkundiges Personal erfolgen. Nationale und interne Labor-Richtlinien für Arbeitssicherheit und Infektionsschutz sind zu befolgen. Tragen Sie geeignete Schutzkleidung und Einmalhandschuhe während der Arbeit.

Es ist auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien zu achten.



Für weitere und allgemeine Sicherheitshinweise beachten Sie bitte auch die Angaben auf dem Etikett und das entsprechende Sicherheitsdatenblatt (SDB/SDS).
Download über QR-Code oder Link: www.sds-id.com/100033-5

Inhalt/Hauptbestandteile

004001-0250	250 ml	freies Hämoglobin Reagenz (fHb)
		Scatteringfreie Spezialqualität für das freie Hämoglobin.
	Cont.	0,8 mmol/l Cyanid, 0,61 mmol/l Kaliumhexacyanoferrat(III), Phosphatpuffer pH = 7,40, Detergenz/Lysemittel/Stabilisierungsmittel, scatteringfrei.

Zusätzlich benötigte oder empfohlene Materialien

004631-...	CAL	Cyanhämglobin-Standard fHb
		12,0 mg/dl fHb = 1,86 µmol/l fHb
004631-0002/5	5x	2,0 ml Cyanhämglobin-Standard fHb
004631-0005/20	20x	5,0 ml Cyanhämglobin-Standard fHb

Probenmaterial

Heparin-Plasma, Überstand von Erythrozytenkonzentraten (EKs).

CPD-A Blut (RUO)^{*5)}.

Serum nur in dringenden Ausnahmefällen.

Hämolyse durch Blutentnahme und nachfolgende Bearbeitung führt zu falsch erhöhten Ergebnissen.

Die Proben müssen absolut frei von Zellen oder anderen Partikeln/Flusen sein (siehe auch unter Leistungsmerkmale ⇨ Interferenzen).

Präanalytik:

Für die Präanalytik ist zügige Abfolge der Arbeitsschritte und sorgfältiges sauberes Arbeiten dringend erforderlich. Daher gelten die nachstehenden präanalytischen Bedingungen generell für die Bestimmung des freien Hämoglobins.

Absolut obsolet:

Jeglicher Probentransport von Vollblut-Proben! Blutproben können auch nicht gekühlt transportiert oder aufbewahrt werden. Das Plasma oder Serum muss unverzüglich und sorgfältig von den Zellen getrennt werden (pipettieren, nicht dekantieren!).

Heparin-Plasma:

Heparin-Abnehmeröhrchen nicht zu stark mischen. 2x kippen genügt in der Regel. Danach SOFORT(!!) in einer frei schwingenden Zentrifuge schonend zentrifugieren (reduzierte Beschleunigung und langsames Auslaufen der Zentrifuge). Der Überstand sofort abpipettieren. Dabei mindestens 5 mm Abstand mit der Pipettenspitze zu den Blutzellen halten. Keine Zellen aufwirbeln! Wenn bei wiederholt scharfer Zentrifugation des abpipettierten Überstandes sich noch Zellen absetzen, wurde unzureichend sauber gearbeitet. Dann den zweiten Überstand nochmals abpipettieren. Der zellfreie Überstand (Plasma) wird zur Analyse eingesetzt. Haltbarkeit im Überstand mehrere Stunden (unter Steril-Bedingungen).

Serum^{*3)}:

Serum als Probenmaterial wird nicht oder nur für Ausnahmefälle empfohlen, da wesentlich anfälliger auf präanalytische Hämolyse! Blutprobe nach der Entnahme SOFORT zentrifugieren und Überstand SOFORT separieren (siehe Heparin-Plasma). Danach abwarten bis die Gerinnung abgeschlossen ist. Der Überstand wird dann scharf zentrifugiert. Das dann zellfreie Serum wird abpipettiert. Erst daraus wird das Serum fHb bestimmt^{*3)}.

EKs:

Für den Vorgang der Zentrifugation folgen Sie den Anweisungen für Plasma.

CPD-A^{*5)}:

CPD-A Blut (nur für die Forschung (RUO) - nicht als IVD verwenden). Mischungsverhältnis exakt einhalten und Verdünnung in der Berechnung berücksichtigen.

Referenzbereiche

Die nachstehenden Referenzwerte beziehen sich auf die Literaturangaben. Eigene Referenzwerte wurden nicht ermittelt. Verschiedentlich werden auch bis über 5x höhere Referenzwerte gelesen. Möglicherweise sind sehr hohe Referenzwerte auch Folge ungenügender Berücksichtigung der Präanalytik.

Heparin-Plasma:

< 2 mg/dl (< 20 mg/l) freies Hämoglobin [6].

Serum:

< 5 mg/dl (< 50 mg/l) freies Hämoglobin [6].

EK-Überstand:

Die Hämolyserate darf am Ende der Laufzeit des Erythrozytenkonzentrates maximal 0,8% der Erythrozytenmasse betragen^{*2)}. Abhängig vom jeweiligen Hämatokrit entspricht dies einer freien Hämoglobinkonzentration von etwa 400 mg/dl [6].

Durchführung

Wellenlängen:..... 540 nm; 680 nm
Schichtdicke:..... 10 mm
Temperatur:..... 20... 37 °C
Messart:..... gegen Reagenz

Verdünnung 1 : 5

In Reagenzglas/Küvette pipettieren:	Makro:	Halbmikro:	Mikro:
R fHb-Reagenz	4000 µl	1000 µl	400 µl
PR Probe	1000 µl	250 µl	100 µl

Pipette durch mehrmaliges Aufziehen mit Reaktionsgemisch gut ausspülen. Mischen und nach frühestens 3 Minuten die Extinktion der Probe gegen das fHb-Reagenz als Leerwertmessen ⁴⁾.

Auswertung/Berechnung

Für Verdünnung 1 : 5 gilt:

Hämoglobin-Konzentration:

$$(E_{540} - E_{680}) \times 732,5 = \text{mg/dl fHb}$$

$$(E_{540} - E_{680}) \times 7325 = \text{mg/l fHb}$$

$$(E_{540} - E_{680}) \times 113,6 = \mu\text{mol/l fHb}$$

$$(E_{540} - E_{680}) \times 454,2 = \mu\text{mol/l fHb}_{(\text{Fe})}$$

Umrechnung:

$$\text{mg/dl fHb} \times 0,155 = \mu\text{mol/l fHb}$$

$$\text{mg/dl fHb} \times 0,621 = \mu\text{mol/l fHb}_{(\text{Fe})}$$

Nomenklatur

R = Reagenz
PR = Probe
E₀₀₀ = Extinktion bei Wellenlänge

fHb = Tetramere Form des freien Hämoglobins
fHb_(Fe) = Monomere Form des freien Hämoglobins

Qualitätskontrolle

Zur Kontrolle von Präzision und Richtigkeit wird die Verwendung einer Kontrolle für freies Hämoglobin (fHb) empfohlen.

Beispiele:

- Clinchek[®] fHb.
Lyophilisierte fHb-Kontrolle der Fa. Recipe www.recipe.de.
- Rapirol[®] fHb.
Flüssige, gebrauchsfertige fHb-Kontrolle. Diese Kontrolle steht nur als OEM-Fertigung zu Verfügung.

Wir empfehlen insbesondere bei Serienmessungen zusätzlich zu einer Kontrolle unseren Cyanhämoglobin-Standard fHb REF 004631-... wie eine Kontrolle mit zu führen. Schwankungen und Unpräzisionen in der Messung können hierdurch deutlich leichter erkannt werden.

Leistungsmerkmale

Nachweisgrenzen

Die Testanleitung ist zur Messung von freiem Hämoglobin in Konzentrationen von 0... 1000 mg/dl (0... 620 µmol/l) geeignet, da das Lambert-Beersche Gesetz in diesem Konzentrationsbereich erfüllt wird.

Präzision

In der Serie n = 20	Mittelwert [mg/dl]	SD [mg/dl]	VK [%]
Probe 1	149,8	0,35	0,23
Probe 2	286,6	1,11	0,39

Von Tag zu Tag n = 20	Mittelwert [mg/dl]	SD [mg/dl]	VK [%]
Probe 1	128,4	0,70	0,54
Probe 2	337,0	1,34	0,40

Korrelation

Bei einem Vergleich dieses Reagenzes (y) mit einem anderen Reagenz der Referenzmethode*¹⁾ (x) wurden mit n = 50 Proben folgende Ergebnisse erhalten: $y = 0,9933 \times x + 1,7119$; $r = 0,996$.

Interferenzen

Wir haben keine Angaben über weitere als die hier aufgeführten Interferenzen.

Lipämie

Lipämische Proben können zu erhöhten Ergebnissen führen. Stark lipämische Proben müssen geklärt werden (Ideal da ohne Verdünnungseinfluss: Lipidex von Bioanalytic).

Bilirubin

Ikerische Proben können die fHb-Bestimmung stören. Es liegen uns jedoch keine gesicherten quantitativen Ergebnisse oder Grenzwerte vor. Eine Störung durch Bilirubin > 2 mg/dl wird in der Literatur ⁹⁾ angegeben.

Partikel

Interferenzen können durch Partikel (Staub, Flusen) oder Zellen hervorgerufen werden. Die 2 - Wellenlängen- Methode verhindert zwar in bestimmten Grenzen Fehlmessungen durch leichte Trübungen, aber entgegen mancher Interpretation schützt sie NICHT vor Fehlmessungen durch Partikel, Flusen und Zellen. Im Gegenteil vergrößert sich das Risiko von Fehlmessungen in einer durch Partikel/Flusen kontaminierten Küvette mit jeder zusätzlichen Wellenlänge bzw. Messung.

Um Interferenzen durch Partikel zu erkennen ist es zu empfehlen, von einer Probe mehrfache Messungen durchzuführen und auf Übereinstimmung zu prüfen. Trübungen erzeugen im Gegensatz zu Partikeln meistens keine Differenzen der gleichen Probe.

Partikel aus Luftverschmutzung

Das Reagenz ist vor Kontamination mit Staub, Flusen etc. zu schützen und stets gut verschlossen zu halten. In idealer Weise entnehmen sie Reagenz durch Ausgießen in ein staub-/partikelfreies Gefäß (z. B. Gefäße für Hämatologie-Zählgeräte) oder spülen dieses mit Reagenz vor.

Bei Reagenz-Resten in der Flasche von weniger als 20 % der angegebenen Füllmenge sollte dieses für eine neue Serie nicht mehr verwendet werden (neue Flasche verwenden, Rest verwerfen).

Partikel aus Probe

Um Partikel aus der Probe zu verhindern nicht offen stehen lassen, sondern nach dem Zentrifugieren sofort abtrennen und verschließen.

Hinweise

Die vorliegende Produktinformation ist ausschließlich für das hier aufgeführte Produkt gültig. Insbesondere kann diese nicht für ähnliche Produkte anderer Hersteller hergenommen werden.

Verwendungshinweis

Nur für professionelle Anwendung.

Um Fehler zu vermeiden, ist die Anwendung von Fachpersonal durchzuführen. Nationale Richtlinien für Arbeitssicherheit und Qualitätssicherung sind zu befolgen.

Die verwendeten Geräte müssen dem Stand der Technik und den Laboranforderungen entsprechen.

Infektionsschutz

Es ist auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien zu achten.

Laborpersonal, das mit Humanproben arbeitet, sollte mindestens gegen Hepatitis B (HBV) immunisiert sein.

Klassifizierungen

EU: EDMA: 13 01 09 90 00; IVD (in-vitro Diagnostikum).

AU: Class I; IVD.

CA: HC: Class I; exempt; for in-vitro diagnostic use.

US: FDA: JCG; Class I; exempt; for in-vitro diagnostic use.

Unterstützung / Infoservice

Methodische und technische Unterstützung erhalten Sie per E-Mail unter support@bioanalytic.de.

Überprüfen Sie die Aktualität dieser Produktinformation regelmäßig auf unseren Internetseiten.

Rückmeldungen

Hinweise der Anwender können an support@bioanalytic.de berichtet werden.

Vorschläge werden für weitere Entwicklungen berücksichtigt.

Wenn während oder infolge des Gebrauchs ein schwerwiegender Vorfall aufgetreten ist, melden Sie diesen bitte dem Hersteller und / oder seinem Bevollmächtigten und Ihrer nationalen Behörde.

Entsorgung

Bitte beachten Sie die gesetzlichen Vorschriften Ihres Landes.

Gebrauchte und verfallene Lösungen sind entsprechend der lokalen Vorschriften zu entsorgen. Innerhalb der EU gelten die Vorschriften auf der Grundlage Richtlinie 67/548/EWG des Rates der Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe, in der jeweils gültigen Fassung.

Dekontaminierte Verpackungen können dem Hausmüll oder Recycling zugeführt werden, soweit nicht anders geregelt.

Ungebrauchte Reste

Diese sind i. d. R. Sonderabfälle die der Wiederverwertung oder Entsorgung zugeführt werden müssen. Nach Rücksprache nehmen wir solche Reststoffe im Originalgebinde zurück.

Literatur & Fußnoten

Verwendete grafische Symbole und Kennzeichnungen sind entsprechend der Norm bzw. auf unseren Internetseiten verfügbar.

- [1] Henry, R.J.; Clinical Chemistry; Principles and Technics, S.1134. Harper and Row, New York.
 - [2] DIN 58931; Hämatologie - Bestimmung der Hämoglobin-Konzentration im Blut - Referenzmethode.
 - [3] Zander, R., Tapernon, K.; QualiTest Heft 6, Mai 2002; Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York.
 - [4] Tapernon, K., Zander, R.; Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 2001; 36 Supplement 1: S45-S50, Georg Thieme Verlag Stuttgart/New York.
 - [5] Williams, W.J., Beutler, E., Erslev, A.J., Lichtman, M.A.; Hematology, 4. Aufl. McGraw-Hill, New York (1990: 9).
 - [6] Thomas, L.; Labor und Diagnose, 4. Aufl. Med. Verlagsgesellschaft Marburg (1992: 811, 597)
 - [7] Rick, W.; Klinische Chemie und Mikroskopie, 6. Aufl. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg (1972: 115)
 - [8] Council of Europe Publishing. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 5th ed. 1999:84
 - [9] Bednar, Renate: LaboratoriumsMedizin / Journal of Laboratory Medicine. Band 18, Heft 5, Seiten 196–199, ISSN (Online) 1439-0477, ISSN (Print) 0342-3026, DOI: 10.1515/labm.1994.18.5.196, September 2009.
 - [10] Rüdinger, M. F.; interne Dokumentation; Bioanalytic GmbH Umkirch/Freiburg; 2005-11-02#001.
- *1) Referenzmethode = Cyanhämoglobin-Methode nach DIN 58931
*2) Bitte beachten Sie die aktuellen Vorschriften.
*3) Methode / Verfahren nach Manfred F. Rüdinger (Bioanalytic GmbH). Das Verfahren bringt weniger Hämolyseeinfluss durch die Verarbeitung.
*4) Ein Leerwert-Reagenz-Ansatz mit fHb-Reagenz + dest. Wasser anstatt Probe soll entfallen. Der Unterschied von dest. Wasser zu Reagenz ist nicht messtechnisch relevant und der Einsatz von dest. Wasser birgt das Risiko, scatteringrelevante Partikel einzubringen.
*5) CPD-A Blut bewirkt bei falschen Mischungsverhältnissen (zu wenig Blut in Abnahmeröhrchen) zu Verschiebungen des pH-Wertes und zu falschen Ergebnissen, sowie ggf. zu Messfehler durch Ausfällungen. CPD-A Blut nicht für IVD verwenden - nur für die Forschung (RUO).