

Standard Operation Procedures (SOP)

هموگلوبین

هموگلوبین (Hb) Hemoglobin

نام آنالیت: هموگلوبین (Hemoglobin)

ساختمان و متابولیسم: هموگلوبین جزء اصلی گلبول قرمز و پروتئین کونژوگه‌ای است که به صورت وسیله‌ای جهت حمل و نقل اکسیژن و دی اکسید کربن عمل می‌کند. یک ملکول هموگلوبین از دو جفت زنجیره پلی پپتیدی a و b (گلوبین) و چهار گروه پروستتیک هم، که هر کدام حاوی یک اتم آهن ۲ ظرفیتی می‌باشند تشکیل شده است. هر هم قابلیت ترکیب با یک ملکول اکسیژن یا دی اکسید کربن به صورت برگشت پذیر را دارد. هر گرم هموگلوبین، در صورت اشباع کامل، ۱/۳۴ میلی لیتر اکسیژن را در بر دارد. در افراد بالغ هموگلوبین به صورت ۲ a b۲ می‌باشند که به HbA هم می‌گویند.

معرفی آزمایش، کاربرد بالینی: دو نوع بیماری ارثی، قسمت پروتئینی هموگلوبین را تحت تأثیر قرار می‌دهند. یکی تغییر در ساختمان زنجیره پلی پپتیدی که هموگلوبینوپاتی‌ها را شامل می‌شود و دیگری کاهش سرعت سنتز یک یا چند زنجیره پلی پپتیدی است که در تالاسمی شاهد آن هستیم. میزان هموگلوبین در پر خونی (اولیه و نسبی و ثانویه)

و افزایش غلظت خون (در سوختگی، استفراغ شدید و اسهال) افزایش و در آنمی‌های مختلف، مصرف داروهای ایجادکننده آنمی آپلاستیک یا همولیز و در فقر آنزیم G6PD (گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز) کاهش نشان می‌دهد.

اساس روش متداول: کالریمتریک (سیانومت هموگلوبین)، در روش سیانومت هموگلوبین که روش متداولی است و از محلول دراپکین (فری سیانید پتاسیم و سیانید پتاسیم) برای رقیق کردن خون استفاده می‌شود (به نسبت ۲۰ میکرولیتر خون به ۵ میلی لیتر دراپکین) در این آزمایش فری سیانید پتاسیم هموگلوبین را به همیگلوبین (Hi) اکسیده می‌کند و سیانید پتاسیم باعث تشکیل سیانومت هموگلوبین می‌گردد که نتیجه واکنش ایجاد رنگی است که جذب نوری آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر در مقابل استاندارد محاسبه می‌شود.

روش مرجع: سیانومت هموگلوبین

روش ارجح: -

روش‌های دیگر: سیانومت هموگلوبین (HiCN)، اکسی هموگلوبین، گازومتری، گراویمتری (وزن مخصوص).
نوع نمونه قابل اندازه‌گیری: در روش سیانومت هموگلوبین (خون کامل همراه با EDTA (به نسبت ۱/۲-۱/۵ میلی‌گرم به ازاء هر میلی لیتر خون) پارامترهای CBC با نگهداری خون EDTA دار در یخچال ۴ درجه به مدت ۲۴ ساعت پایدار می‌ماند. در روش اکسی هموگلوبین خون مویرگی (هپارینه)، در روش گازومتری خون کامل هپارینه، افزایته یا همراه با EDTA و در روش گراویمتری خون کامل (میران، افزالات یا EDTA) یا جریان مستقیم از مویرگ.

محدوده طبیعی:

در روش سیانومت هموگلوبین: نوزادان ۱۰۰ g / 17-23، زنان ۱۰۰ g / 12-16، مردان ۱۰۰ g / 13-18 (هموگلوبین نوزادان نارس از نوزادان کامل پایین‌تر است).

واکنش تداخلی: در شرایط آزمایشگاهی (invitro): در روش سیانومت هموگلوبین وجود هیپرتری گلیسریدمی و لکوسیتوز بیشتر از 9 L/ ۲۵*۱۰

۱- کدورت محلول در ابکین: الف) افزایش لکوسیت‌ها (ب) هموگلوبینوپاتی‌های c و s ج) افزایش لیپیدها و سلولهای تارگت در بیماران کبدی د) افزایش گلبولین‌های مونوکلونال و پلی کلونال (ملوم مولتیل و ماکروگلوبولینمی و آلان اشتروم) ۲- تأخیر در سرعت تبدیل هموگلوبین به سیانومت هموگلوبین.

- کاربوکسی هموگلوبین در افراد سیگاری (بطور کلی کاهش فشار اکسیژن) باعث افزایش هموگلوبین می‌گردند.
معایب و فواید روش حاضر: روش سیانومت هموگلوبین روش انتخابی کمیته بین المللی استاندارد در همتولوژی (ICSH) است با این روش همه هموگلوبین‌ها به جز سولفو هموگلوبین قابل اندازه‌گیری است. هموگلوبین نوزادان نارس از نوزادان کامل پایین‌تر است. روش گازومتری فقط قابلیت اندازه‌گیری هموگلوبین فعال حمل کننده اکسیژن را دارد و سولفو هموگلوبین، مت هموگلوبین و کربوکسی هموگلوبین را محاسبه نمی‌کند. متد گراویمتری اغلب در (mass screening) یا غربالگری استفاده می‌شود.

روش رفرانس و منتخب جهت تعیین میزان Hb خون NCCLS -

در پاتل برگزار شده در سال ۱۹۵۸، بدنبال بررسی چندین روش فتومتری جهت اندازه‌گیری هموگلوبین، بدلایلی چند اینطور نتیجه‌گیری شد که بهترین متد، روشی است که در آن هموگلوبین به سیانمت هموگلوبین (HiCN) تبدیل می‌شود. این متد شامل رقیق کردن نمونه با یک معرف است و تمامی اشکال هموگلوبین به جز سولفو هموگلوبین با آن تعیین می‌گردند.

اصول روش HiCN

یونهای فرس (۲+ Fe) موجود در هموگلوبین توسط فری سیانید پتاسیم موجود در محلول به یون فریک (۳+ Fe) اکسید می‌شود و بدین ترتیب همیگلوبین (Hi) و K3Fe(CN)6 تشکیل می‌شود. Hi با یونهای سیانید حاصل از پتاسیم سیانید واکنش میدهد و همیگلوبین سیانید (HiCN) ایجاد می‌شود. واکنش در دمای آزمایشگاه (۱۸-۲۵ °C) انجام می‌شود و زمان لازم برای ایجاد رنگ کامل ۵ دقیقه و در pH 7 تا ۷/۵ کمتر از ۵ دقیقه می‌باشد. HiCN حاصل در طول موج 540 nm حداکثر جذب نوری را دارد.

Standard Operation Procedures (SOP)

هموگلوبین

هدف:

اندازه‌گیری صحیح هموگلوبین

- * جهت انجام روشهای کالیبراسیون خون کامل برای دستگاههای خودکار هماتولوژی لازم است.
- * برای تعیین مقادیر هموگلوبین، کنترل‌های مورد استفاده در روشهای اندازه‌گیری هموگلوبین ضروری است.
- * ارزیابی تجهیزات و متدهای جایگزین، تعیین غلظت هموگلوبین ضرورت دارد.
- * آزمایشهای روتین هماتولوژی جهت اهداف بالینی و ماتیتورینگ پیشرفت درمان بکار می‌رود.

معرف : محلول تغییر یافته Drabkin's

خصوصیات معرف: معرف شفاف و زرد رنگ بوده، در طول موج بالاتر از 480 nm جذب نوری ندارد. pH آن بین ۷ و ۷/۴ و اسمولالیتیه آن 6-7 mosm/kg است. در این محلول، Hb در عرض ۵ دقیقه به Hien تبدیل می‌شود (تبدیل کربوکسی هموگلوبین در مدت طولانی‌تری صورت می‌گیرد، تا ۳۰ دقیقه در مورد COHb خالص) محلول، باید در ظرف شیشه‌ای قهوه‌ای و با در محکم نگهداری شود. معرف در برابر نور و انجماد پایداری خود را از دست می‌دهد.

نمونه: خون وریدی، ماده ضد انعقاد EDTA به میزان 2/2-5/1 mg در هر ml خون.

مواد مداخله‌گر: لیپمی، وجود مقادیر زیادی لیپوپروتئین، گلبول سفید به مقدار بیش از 20000/mm³، پلاکت بیش از 700000/mm³ و مقدار زیاد Hbs موجب کدورت محلول و در نتیجه افزایش کاذب نتیجه می‌شود.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.