مردان	زنان	کودکان	نوزادان
13-18g/dl	11-16g/dl	10-14g/dl	14-23g/dl

آزمایشگاه دامنه طبیعی خود را تعیین کند. زیرا این دامنه می‌تواند متأثر از عوامل گوناگونی باشد. گزارش شده است که عواملی مانند سن، نژاد، میزان فعالیت بدنی، فصل و ارتفاع از سطح دریا در دامنه طبیعی هموگلوبین اثر دارند.

بازیافت حساسیت، صحّت و دقّت:

حداقل حساسیت اندازه‌گیری (MDL) این روش ۰/۲g/dl به‌دست آمده است. میزان صددرصد بازیافت به‌صورت خطی نشان داده شده است. صحت کیت در مقایسه با کیت‌های مطلوب و کنترل‌های موجود در بازار r=۰/۹۹۳ به‌دست آمده است.

دقت کیت در ارزیابی آماری ضریب واریان (CV٪) در ۵ نمونه خون تام در غلظت‌های کاهش یافته، نرمال و افزایش‌یافته که هرکدام ۴بار انجام و در دفعات مختلف تکرار شدند، میزان کمتر از ۳/۲ درصد را نشان دادند.

محدودیت‌ها و تداخل:

۱. این روش هموگلوبین و مشتقات آنرا به‌جز سولف‌هموگلوبین (Sulf-haemoglobin) را اندازه می‌گیرد.

۲. نمونه‌های خون با مقادیر هموگلوبین بیش از ۲۰g/dl را باید حجم نمونه خون را به ۱۰ میکرولیتر کاهش داده و نتیجه نهایی را در فاکتور ۲ ضریب کرد.

۳. کدورت به‌طور طبیعی بر روی جذب نوری اثر می‌گذارد.

۴. لیپیدها، پروتئین‌های غیرطبیعی پلاسما یا استرومای گلبول‌های سرخ اثر تداخلی در این تست دارند.

مراجع:

1. ICSH committee, *J of Clin Path.* (1978) 31; 139.
2. Dacie, J.V. (1985) *Practical Hematology,* 6th Edition.
3. Drabkin, DL; Austin AH. (1935) *J Biol. Chem.* 112:51.

www.bird-bahar.com
E-mail:bahar@bird-bahar.com
تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹، نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵

اندازه‌گیری هموگلوبین محلول «درابکین»

Drabkin's Reagent

چکیده:

اندازه‌گیری هموگلوبین یکی از شایع‌ترین تست‌های غربالگری برای تشخیص کم‌خونی یا آنمی است. «کمیته جهانی استانداردسازی خون‌شناسی» (ICSH) روش سیانومت هموگلوبین (CMG) را به‌عنوان متد استاندارد برای اندازه‌گیری هموگلوبین پیشنهاد می‌کند.[1] کاهش غلظت هموگلوبین در تیپ‌های مختلف آنمی رخ می‌دهد. افزایش غلظت هموگلوبین در پلی‌سیتمی ناشی از افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون ناشی می‌شود.

پایه آزمون:

در این واکنش فرّی سیانورپتاسیم، هموگلوبین و مشتقات آن را در pH قلیایی اکسید کرده و سپس تبدیل به مت هموگلوبین می‌کند. در آزمایشگاه با پایدارسازی مت هموگلوبین در حضور سیانورپتاسیم و تبدیل آن به سیانومت هموگلوبین (CMG) و اندازه‌گیری جذب نوری در ۵۴۰ نانومتر میزان هموگلوبین تام اندازه‌گیری می‌شود. شدت رنگ ایجادشده نسبت مستقیمی با غلظت هموگلوبین در نمونه مورد آزمایش دارد.(۲)

محتویات کیت:

۱. کیت حاوی ویال محلول درابکین ۱۰ برابر غلیظ (R_1) است.
۲. تعداد ۴ ویال استاندارد هریک به حجم ۵ میلی‌لیتر.

پایداری و حمل ونقل:

محلول غلیظ درابکین در یخچال ۸-۲ درجه سانتی‌گراد، به‌دور از نور و درب بسته تا تاریخ یادشده بر روی ویال پایدار است.

*** از یخ زدن محلول و استانداردها اجتناب شود.**

آماده‌سازی محلول:

محتویات یک ویال (۵۰ میلی‌لیتری) را با احتیاط به بالن‌ژوژه ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل کرده و **با کمی آب مقطر داخل ویال را شسته** و آنرا هم به بالن بیفزایید. سپس محتویات بالن را با آب مقطر به‌حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر برسانید. **(این محلول در شیشه رنگی و در دمای اتاق تا ۳ ماه پایدار است).**

* **نکته:** درصورت بروز کدورت و یا بی‌رنگ شدن محلول درابکین آنرا مورد استفاده قرار ندهید.

* **هشدار:** محلول درابکین حاوی ترکیبات سیانور بوده و سمّی است. از تماس با پوست و دهان پرهیز شود.

نمونه مورد نیاز:

خون از نوک انگشت و یا خون همراه با مواد ضدانعقاد مانند EDTA، هپارین یا اگزالات.

روش رسم منحنی استاندارد هموگلوبین:

استانداردهای هموگلوبین را از یخچال خارج و به حرارت اتاق برسانید. سپس جذب آنها را مقابل بلانک (لوله شماره ۱) در ۵۴۰ نانومتر قرائت نمایید. روی کاغذ میلی‌متری (قابل تهیه از بهارافشان) در محور افقی ارزش استاندارد و بر محور عمودی جذب را درج نمایید.

روش انجام آزمایش:

طول موج	دما	کووت	اندازه‌گیری
540nm (530-550nm)	18-24ºC	1cm Light path	در مقابل بلانک محلول

www.bird-bahar.com
E-mail:bahar@bird-bahar.com

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹، نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵

شرایط انجام تست اندازه‌گیری هموگلوبین در جدول زیر خلاصه شده است:

با توجه به جدول زیر، در دمای اتاق ۲۰µl از خون تام را به ۵ میلی‌لیتر از محلول درابکین آماده شده بیفزایید.

	تست	بلانک محلول
محلول درابکین	5ml	5ml
نمونه خون	۲۰µl	-

محتویات لوله را کاملاً مخلوط کرده و پس از ۵ دقیقه جذب نوری را مقابل بلانک (محلول آماده مصرف درابکین) در طول موج ۵۴۰ نانومتر بخوانید. رنگ ایجاد شده در محلول باید برای ساعت‌ها پایدار بماند، ولی توصیه می‌شود که **خواندن تست را در عرض یک ساعت تمام کنید تا تبخیر سطحی محلول اختلالی در نتیجه آزمون ایجاد نکند.** برای دریافت نتیجه صحیح پس از برداشت نمونه خون، ناحیه بیرون نوک سمپلر یا پیپت سالی (Sahli) را با دستمال کاغذی تمیز از خون پاک کنید و پس از تخلیه، سه‌بار دیواره داخلی آنرا با محلول درابکین شستشو دهید.

روش محاسبه:

روش پیشنهادی و مورد تأیید استفاده از منحنی استاندارد است. غلظت هموگلوبین تام در نمونه مورد آزمایش را مستقیماً از روی منحنی استاندارد بخوانید. در صورت رعایت کلیه شرایط یادشده در «شرایط آزمایش» (کووت، دما، بلانک، طول‌موج) می‌توان با استفاده از ضریب میزان هموگلوبین را محاسبه کرد:

هموگلوبین (g/dl) = ۳۶/۸ × جذب تست

هربار که از کیت با شماره ساخت جدید و یا دستگاه اسپکتروفتومتر جدید استفاده می‌شود، باید منحنی جدید رسم شود. برای کنترل کیفی عملیات در این تست از خون کنترل طبیعی و یا غیرطبیعی که غلظت هموگلوبین آنها معین است استفاده شود. منحنی به‌دست آمده با این کیت تا غلظت ۲۰ گرم درصد به‌صورت خطی است.

دامنه طبیعی:

این مقادیر صرفاً به‌عنوان یک راهنما ارائه شده است. پیشنهاد می‌شود هر