



freies Hämoglobin (fHb)

Für das freie Hämoglobin stehen zwei unterschiedliche Methoden zu Verfügung. Hier finden Sie die wesentlichen Unterschiede im Vergleich beider Methoden.

Präanalytik

Die Präanalytik, wie diese in der Gebrauchsanleitung des Reagenzes beschrieben, ist fundamental wichtig! Wird die Präanalytik außer Acht gelassen, so sind Fehlbestimmungen vor-programmiert. Dies gilt grundsätzlich für alle fHb-Methoden - unabhängig von Methode und Hersteller!

2-Wellenlängen-Methode (540/680 nm) nach Tapernon [1] (Cyanhämglobin-Methode)

Methode

Die Cyanhämglobin-Methode zur Hämoglobin-Bestimmung ist ein anerkanntes Referenzverfahren, das in der Norm DIN 58931 beschrieben ist. Cyanhämglobin ist eine sehr stabile Verbindung und Fotometrisch leicht zu messen. Sie umfasst alle Hämoglobinderivate, außer Verdoglobin.

Die Cyanhämglobin-Methode wurde von Tapernon [1] für das freie Hämoglobin als 2-Wellenlängen-Methode modifiziert.

Eignung

Die für fHb ausgewiesenen Reagenzien von Bioanalytic sind speziell scatteringfrei hergestellt und für fHb geprüft. Scatteringfreie Reagenzien sind insbesondere bei allen mehrwellenlängen-Methoden erforderlich. Ansonsten besteht die Gefahr einzelner falscher Messergebnisse aufgrund der Berechnung – bis hin zu negativen Ergebnissen.

Adaptionsfähigkeit

Die Methode ist sehr leicht auf Analysenautomaten zu adaptieren. Als Grundlage hierzu dient unsere Gebrauchsanleitung für manuelle Durchführung. Dabei ist zu beachten, dass Probevolumen 100 µl nicht unterschreiten sollte. Unterhalb dieses Probevolumens ist die Methode außerhalb der Spezifikation bzw. CE-Konformität.

Applikationsvorschriften

Applikationsvorschriften für Analysenautomaten liegen uns selbst nicht vor. Hierfür wenden Sie sich bitte an ihren Gerätehersteller bzw. an dessen Service für Applikation.

Einige Gerätehersteller verweisen Ihre Gerätekunden bei Anfrage nach fHb direkt an uns. In der Regel haben diese Gerätehersteller auch Applikationsvorschriften oder können Ihnen weiter helfen.

Vergleich

- Stark lipämische Proben können zu erhöhten oder auch zu niedrigeren Ergebnissen führen und sollten vor der Analyse immer mit Lipidex^{®2} (Bioanalytic) geklärt werden.
- Interferenzen durch Bilirubin sind durch die Messwellenlänge gegeben. Es liegen uns jedoch keine gesicherten quantitativen Ergebnisse oder Grenzwerte vor.
- Interferenzen durch eingetragene Partikel aus der Umgebungsluft können eine saubere Messung stören.
- Einfache Berechnung der fHb-Konzentration über Faktor/Berechnungsschema.
- Es steht ein Cyanhämglobin-Standard zur Kalibration bzw. zur Überprüfung bei Berechnung mit Faktor zu Verfügung.

3-Wellenlängen-Methode (380/415/450 nm) nach Harboe [2]

3-Wellenlängen-Methode (415/450/700 nm) nach Fairbanks [3]

Methode

Die 3-Wellenlängen-Methoden nach Harboe [2] und nach Fairbanks [3] stellen eine native Messung des Hämoglobins in einer gepufferten und scatteringfreien Lösung dar. Der Nachweis bezieht sich ausschließlich auf das Molekül Hämoglobin. Hämoglobinderivate werden nicht erfasst.

Eignung

Nur die für fHb ausgewiesenen Reagenzien von Bioanalytic sind speziell scatteringfrei hergestellt und für fHb geprüft. Scatteringfreie Reagenzien sind insbesondere bei allen mehrwellenlängen-Methoden erforderlich. Ansonsten besteht die Gefahr einzelner falscher Messergebnisse aufgrund der Berechnung – bis hin zu negativen Ergebnissen.

Adaptionsfähigkeit

Die Methode ist sehr leicht auf Analysenautomaten zu adaptieren. Als Grundlage hierzu dient unsere Gebrauchsanleitung für manuelle Durchführung. Dabei ist zu beachten, dass Probevolumen 200 µl nicht unterschreiten sollte. Unterhalb dieses Probevolumens ist die Methode außerhalb der Spezifikation bzw. CE-Konformität.

Applikationsvorschriften

Applikationsvorschriften für Analysenautomaten liegen uns selbst nicht vor. Hierfür wenden Sie sich bitte an ihren Gerätehersteller bzw. an dessen Service für Applikation.

Einige Gerätehersteller verweisen Ihre Gerätekunden bei Anfrage nach fHb direkt an uns. In der Regel haben diese Gerätehersteller auch Applikationsvorschriften oder können Ihnen weiter helfen.

Vergleich

- Stark lipämische Proben können zu erhöhten oder erniedrigten (auch negativen) Ergebnissen führen und sollten vor der Analyse immer mit Lipidex^{®2} (Bioanalytic) geklärt werden.
- Interferenzen durch Bilirubin sind durch die Messwellenlänge unwahrscheinlicher, als bei der Cyanhämglobin-Methode. Es liegen uns jedoch keine gesicherten quantitativen Ergebnisse oder Grenzwerte vor.
- Interferenzen durch eingetragene Partikel aus der Umgebungsluft können eine saubere Messung stören. Hier ist die 3-Wellenlängen-Methode etwas empfindlicher auf Störungen.
- Einfache Berechnung der fHb-Konzentration über Faktor/Berechnungsschema.
- Es steht kein Standard zur Kalibration zu Verfügung.

- Kontrollen, die auf dem Markt^{*3)} verfügbar sind, können für Ihre interne Qualitätskontrolle verwendet werden. Methodenspezifische Sollwerte dieser Kontrollen sind ggf. zu beachten. Diese Kontrollen können durch das Herstellungsverfahren (Lyophilisieren) bedingt methodenspezifische Sollwerte aufweisen.
- Für den direkten Methodenvergleich/Rückführbarkeit auf HiCN-Standard nach CLSI empfehlen wir möglichst frisch hergestellte Flüssigproben zu verwenden.
Derzeit stehen für die Routine keine kommerziell erhältlichen Flüssigkontrollen zu Verfügung.
- Für die eigene Herstellung von Flüssigkontrollen steht ein Protokoll auf Anforderung zu Verfügung. Der hohe Arbeitsaufwand rentiert aber nur für die Validierung, weniger für die Routine. Diese Flüssigkontrollen weisen i. d. R. keinen signifikanten Unterschied zwischen unterschiedlichen Untersuchungsmethoden auf.
- Flüssige Kontrollen können von Bioanalytic in Sonderanfertigung hergestellt werden. Mindestmenge sind 5 Liter per Batch. Rentabilität ist für Anwender/Untersuchungslabore in der Regel nicht gegeben, da ein Bedarf von >2...3L pro Monat benötigt wird.

Verwendung

Grundsätzlich sind beide Methoden zur fHb-Bestimmung weitgehend gleichwertig. Für die unterschiedlichen Anwendungen ergeben sich aber spezifische Vorteile.

- Auf Analysenautomaten adaptierbar.

Vorwiegender Einsatz

In-vitro Diagnostik (IVD)

- Als einzige oder Parallelmethode.

Referenzierung

- Verwendung zur Referenzierung der Harboe-Methode, da Standard verfügbar.

Materialprüfung

- Die fHb-Bestimmung auf Basis der Cyanhämoglobin-Methode wird im Bereich Materialprüfung (Hämolyseeigenschaften von Materialoberflächen für die Medizin) vorwiegend eingesetzt, teilweise auch parallel zur Methode nach Harboe.

Transfusionsmedizin

- Ebenso ist diese Methode auch für die Transfusionsmedizin gut geeignet, denn nach Ersatz des Spender-Plasmas durch synthetische und mikrofiltrierte Lösungsgemische bestehen kaum Interferenzen.

- Kontrollen, die auf dem Markt^{*3)} verfügbar sind, können für Ihre interne Qualitätskontrolle verwendet werden. Methodenspezifische Sollwerte dieser Kontrollen sind ggf. zu beachten. Diese Kontrollen können durch das Herstellungsverfahren (Lyophilisieren) bedingt methodenspezifische Sollwerte aufweisen.
- Für den direkten Methodenvergleich/Rückführbarkeit auf HiCN-Standard nach CLSI empfehlen wir möglichst frisch hergestellte Flüssigproben zu verwenden.
Derzeit stehen für die Routine keine kommerziell erhältlichen Flüssigkontrollen zu Verfügung.
- Für die eigene Herstellung von Flüssigkontrollen steht ein Protokoll auf Anforderung zu Verfügung. Der hohe Arbeitsaufwand rentiert aber nur für die Validierung, weniger für die Routine. Diese Flüssigkontrollen weisen i. d. R. keinen signifikanten Unterschied zwischen unterschiedlichen Untersuchungsmethoden auf.
- Flüssige Kontrollen können von Bioanalytic in Sonderanfertigung hergestellt werden. Mindestmenge sind 5 Liter per Batch. Rentabilität ist für Anwender/Untersuchungslabore in der Regel nicht gegeben, da ein Bedarf von >2...3L pro Monat benötigt wird.

Verwendung

Grundsätzlich sind beide Methoden zur fHb-Bestimmung weitgehend gleichwertig. Für die unterschiedlichen Anwendungen ergeben sich aber spezifische Vorteile.

- Auf Analysenautomaten adaptierbar.

Vorwiegender Einsatz

In-vitro Diagnostik (IVD)

- Die fHb-Bestimmung nach Harboe wird vorwiegend im Bereich der in-vitro-Diagnostik (med. und vet.-med. Labor) eingesetzt.
Zur Referenzierung dient dann die fHb-Cyanhämoglobin-Methode.

Literatur & Fußnoten

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

- [1] Zander, R., Tapernon, K.; QualiTest Heft 6, Mai 2002; Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York.
- [2] M. Harboe: A Method for Determination of Hemoglobin in Plasma by Near-Ultraviolet Spectrophotometry. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation Jan 1959, Vol. 11, No. 1: 66–70.
- [3] V.F. Fairbanks et al. Methods for measuring plasma hemoglobin in micromolar concentration compared. Clin. Chem., 38:132{140, 1992.
- Alle hier gemachten Angaben beruhen auf unserer Erfahrung, Rückmeldung von Kunden und sind ohne Gewähr.
- *1) Siehe Gebrauchsanleitung.
- *2) LipidEx ist von Bioanalytic GmbH erhältlich. REF 005190-0010 (10 ml) oder 005190-0100 (100 ml). Pro Probe werden 500 bis 1000 µl verwendet. Es ist kein Verdünnungsfaktor zu berücksichtigen!
- *3) RECIPE Chemicals + Instruments GmbH • www.recipe.de • Dessauerstraße 3 • 80992 München.