

HEMOGLOBINA

REF K023

INSTRUÇÕES DE USO



FINALIDADE

Método para a determinação da Hemoglobina em amostras de sangue total (EDTA, citrato ou Oxalato). Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Cianometahemoglobina

O método baseia-se na oxidação do átomo de Ferro (Ferro II) da molécula de Hemoglobina pelo Ferricianeto de Potássio em pH fracamente alcalino, formando a Metahemoglobina que é convertida em Cianometahemoglobina após a reação com o Cianeto de Potássio. A coloração avermelhada é proporcional à concentração de Hemoglobina presente na amostra.

REAGENTES

Número 1 - Reagente de Cor Estoque - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Tampão Fosfato < 300 mmol/L, Ferricianeto de Potássio < 240 mmol/L, Cianeto de Potássio < 300 mmol/L e surfactante.

Manusear este reagente com muito cuidado, reagente tóxico.

APRESENTAÇÃO

Reagente	Volume
Nº1	2 x 10 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, balão volumétrico e kit de Padrão Hemoglobina **Bioclin**. Encontrem-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- No preparo do Reagente de Trabalho, pode ocorrer formação de bolhas, o que é normal. No entanto, deve-se evitar o máximo, pois dificulta o correto acerto do menisco.
- É muito importante que o frasco empregado para armazenar o Reagente de Trabalho não contenha ácidos, bases ou solventes orgânicos do tipo detergentes.
- O Reagente de Trabalho e os resíduos das reações nunca devem ser desprezados em presença de reagentes ácidos, pois levam a formação de gases tóxicos.
- O sangue total quando coletado em oxalato ou suas misturas requer um intervalo de tempo maior, para que a leitura seja realizada.
- A amostra de sangue deve ser adequadamente homogeneizada antes de ser pipetada.
- As ponteiças das pipetas automáticas devem estar limpas, secas e em condições físicas de uso.
- O Reagente de Cor não deve ser utilizado se apresentar mudança de coloração.
- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Sangue total obtido livre de hemólise, colhido com EDTA, citrato ou oxalato. Estável por 7 dias entre 2 e 8°C.⁷

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade de calibração do kit Hemoglobina instalado em equipamento com refrigeração é de 6 meses. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Em um balão volumétrico de 1 litro colocar aproximadamente 500 mL de água destilada ou deionizada. Transferir todo o conteúdo de um dos frascos do Reagente de Cor Estoque, lavando-o por 3 vezes com água destilada ou deionizada, transferindo as águas de lavagem para o mesmo balão. Completar o volume para 1.000 mL com água destilada ou deionizada. Armazenar em um frasco âmbar à temperatura ambiente, ao abrigo da luz direta e da umidade. Estável por 6 meses entre 15 e 30°C.

TÉCNICA

Marcar o tubo "A" (Amostra) e proceder como a seguir:

	Amostra
Reagente de Trabalho	2,5 mL
Sangue Total	10 µL

Homogeneizar e aguardar 5 minutos à temperatura ambiente, fazer a leitura a 540 nm (520 - 550 nm) acertando o zero com o Reagente de Trabalho. A reação de cor é estável por 60 minutos.

CÁLCULOS

Para calcular o valor em g/dL ver as instruções contidas no kit Padrão Hemoglobina **Bioclin**.

Fator de Calibração = $\frac{\text{Concentração do Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$

Hemoglobina = Absorbância da Amostra x Fator de Calibração (g/dL)

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

O Reagente de Cor contém Cianeto. Manusear com muito cuidado. **Tóxico.**

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em g/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação da Hemoglobina em populações saudáveis do sexo masculino e feminino.

Homens.....12,5 a 17,5 g/dL

Mulheres.....11,5 a 15,5 g/dL

Para converter os valores de g/dL em mmol/L, multiplicar por 1,61. Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO
CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA
O kit Hemoglobina foi comparado com outro método para dosagem de hemoglobina, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 1,008X - 0,107$ e o coeficiente de correlação 0,999. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (g/dL)	9,92	13,12	17,05
Desvio Padrão (g/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficiente de Variação (%)	0,08	0,05	0,08

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (g/dL)	9,92	13,12	17,05
Desvio Padrão (g/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficiente de Variação (%)	0,06	0,04	0,03

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta de hemoglobina. A média encontrada foi de 0,329 g/dL com desvio padrão de 0,001 g/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,330 g/dL.

Linearidade

A reação é linear até 20 g/dL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A Hemoglobina é uma proteína presente no interior das hemácias e tem como função principal o transporte de oxigênio dos pulmões para as células do corpo. Sua determinação é importante para o diagnóstico e controle de anemia, policitemias, desidratações, hemorragias, deficiências nutricionais, lúpus eritematoso, entre outros.

NÚMERO DE TESTES

800 Testes/ 10 µL de Amostra/ 2,5 mL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- HENRY, R. J., Clinical Chemistry – Principles and Technics – Hoeber Division, Haper and Row, New York.
- 2- TONKS, D. B., Clin. Chem., 9:217, 1983.
- 3- DRABKIN, D. L., Austin, J. H., J. Biol. Chem. , 112:51, 1935.
- 4- BARON, D. N., Bioquímica de la Patología Médica Ediciones Toray S/A – Barcelona.
- 5- Internacional Committe for Standartization in Haematology: Recommendations for Haemoglobi- no-metry in Human Blood: Brit., J. Haemat., 13 (suppl.) 71, 1967.
- 6- Word Health Organization, International Biological Reference Preparations 1968. W. H. O. Techn. Rep. Ser. 384, 85, 1968.
- 7- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 8 - QUIBASA: Dados do departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo todos, os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira



OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 031 5454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit Hemoglobina na ANVISA: 10269360097

Revisão: Outubro/2021

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÁMVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

HEMOGLOBINA

K023

INSTRUCCIONES DE USO



FINALIDAD

Método para la determinación de Hemoglobina en muestras de sangre total (EDTA, Citrato o Oxalato). Test colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Cianometahemoglobina

El método se basa en la oxidación del átomo de Hierro (Hierro II) de la molécula de Hemoglobina por el Ferricianuro de Potasio en pH fuertemente alcalino, formando Metahemoglobina que es convertida en Cianometahemoglobina después de la reacción con el Cianuro de Potasio. La coloración roja es proporcional a la concentración de Hemoglobina presente en la muestra.

REACTIVOS

Número 1 - Reactivo de Color Stock - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Tampón Fosfato < 300 mmol/L, Ferricianuro de Potasio < 240 mmol/L, Cianuro de Potasio < 300 mmol/L y surfactante. **Manipular este reactivo con mucho cuidado, reactivo tóxico.**

PRESENTACIÓN

Reactivo	Volumen
Nº1	2 x 10 mL

EQUIPAMIENTO E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, matríz volumétrica y kit de Patrón Hemoglobina **Bioclin**. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte debiera ser de 15 y 30°C. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad.

CUIDADOS ESPECIALES

- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente y exenta de agentes contaminantes.
- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos, e agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- En la preparación del Reactivo de Trabajo, puede ocurrir formación de burbujas, lo que es normal. Aunque debe evitarse máximo, pues dificulta el correcto ajuste del menisco.
- Es muy importante que el frasco empleado para almacenar el Reactivo de Trabajo no contenga ácidos, bases o solventes orgánicos como detergentes.
- El Reactivo de Trabajo y los residuos de las reacciones nunca deben ser eliminados en presencia de reactivos ácidos, pues llevan a la formación de gases tóxicos.
- La sangre total, cuando es obtenida con oxalato o sus mezclas requieren un intervalo de tiempo mayor, para que la lectura sea realizada.
- La muestra de la sangre debe ser adecuadamente homogenizada antes de ser pipeteada.
- Las puntas de las pipetas automáticas deben estar limpias, secas y en condiciones físicas de uso.
- El Reactivo de Color no debe ser utilizado si presentará a cambio de coloración.
- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Sangre total obtenidas libre de hemólisis, colectadas con EDTA, citrato o oxalato. Estable durante 7 días entre 2 y 8°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad de calibración del kit de Hemoglobina instalado en equipo refrigerado es de 6 meses. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto usando sueros de control.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

En un matríz volumétrica de 1 litro colocar aproximadamente 500 mL de agua destilada o deionizada. Transferir todo el contenido de uno de los frascos del Reactivo de Color Stock, lavado por 3 veces con agua destilada o deionizada, transfiriendo las aguas del lavado al mismo matríz. Completar el volumen a 1.000 mL con agua destilada o deionizada. Almacenar en un frasco ambar a la temperatura ambiente, al abrigo de la luz directa y de humedad. Estable por 6 meses entre 15 y 30°C.

TÉCNICA

Marcar el tubo "M" (Muestra) y proceder como sigue:

	Muestra
Reactivo de Trabajo	2,5 mL
Sangre Total	10µL

Homogenizar y aguardar 5 minutos a temperatura ambiente, realizar la lectura a 540 nm (520 - 550 nm) ajustando el cero con el Reactivo del Trabajo. La reacción de color es estable por 60 minutos.

CALCULOS

Para calcular el valor en g/dL ver las instrucciones contenidas en el kit Patrón Hemoglobina **Bioclin**.

Factor de Calibración = $\frac{\text{Concentración del Patrón}}{\text{Absorbancia del Patrón}}$

Hemoglobina = Absorbancia de la Muestra x Factor de Calibración (g/dL)

LIMITACIONES DEL PROCESO

El Reactivo del Color contiene Cianuro. Manipular con mucho cuidado. **Tóxico.**

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

VALORES DEL REFERENCIA

Los valores de referencia en g/dL, en el presente método, fueron obtenidos por determinación de la Hemoglobina en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino.

Hombres.....12,5 a 17,5 g/dL

Mujeres.....11,5 a 15,5 g/dL

Para convertir los valores de g/dL a mmol/L, multiplicar por 1,61. Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio deberá crear su rango de valores de referencia de acuerdo con la población atendida.

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO
CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA
El kit Hemoglobina fue comparado con otro método para dosificación de hemoglobina comercialmente disponible. Fueron realizadas 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue Y = 1,008X - 0,107, con coeficiente de correlación igual a 0,999. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Table with 4 columns: Test Parameter, Muestra 1, Muestra 2, Muestra 3. Rows include Concentración Promedio (g/dL), Desvío Patrón (g/dL), and Coeficiente de Variación (%).

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Table with 4 columns: Test Parameter, Muestra 1, Muestra 2, Muestra 3. Rows include Concentración Promedio (g/dL), Desvío Patrón (g/dL), and Coeficiente de Variación (%).

Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones de una muestra exenta de la presencia de hemoglobina. El promedio encontrado fue 0,329 g/dL con desvío patrón de 0,001 g/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde al promedio más 3 veces el desvío patrón, siendo igual a 0,330 g/dL.

Linealidad

La reacción es lineal hasta 20 g/dL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La hemoglobina es una proteína en los eritrocitos, y tiene como función principal el transporte de oxígeno de los pulmones a las células del cuerpo. Su determinación es importante para el diagnóstico y tratamiento de la anemia, policitemia, deshidratación, hemorragia, deficiencias nutricionales, eriomatoso lupus, entre otros.

NÚMERO DE PRUEBAS

800 Prueba/ 10 µL de la Muestra/ 2,5 mL del Reactivo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - HENRY, R. J., Clinical Chemistry – Principles and Technics – Hoeber Division, Haper and Row, New York.
2 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 9:217, 1983.
3 - DRABKIN, D. L., Austin, J. H., J. Biol. Chem. , 112:51, 1935.
4 - BARON, D. N., Bioquímica de la Patología Médica Ediciones Toray S/A – Barcelona.
5 - Internacional Committe for Standartization in Haematology: Recommendations for Haemoglobi- no-metry in Human Blood: Brit., J. Haemat., 13 (suppl.) 71, 1967.
6 - Word Health Organization, International Biological Reference Preparations 1968. W. H. O. Techn. Rep. Ser. 384, 85, 1968.
7 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
8 - QUIBASA: Dados do departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para su consumo todos los reactivos Bioclin son probados por el Departamento del Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha del validad mencionada en la caja de presentación, si almacenados y transportados en condiciones adecuadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit de Hemoglobina en la ANVISA: 10269360097

Revisión: Octubre/2021

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA
(último día del mes)



CONTROL NEGATIVO



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



RIESGO BIOLÓGICO



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLAMABLE



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO



CORROSIVO



DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



MARCADO CE



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

HEMOGLOBIN



USAGE INSTRUCTIONS



FUNCTION

Method for determination of Hemoglobin in whole blood samples (EDTA, Citrate or Oxalate). Colorimetric test. For *in vitro* diagnostic only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Cyanomethaemoglobin

The method is based in oxidizing the Iron atom (Iron II) of the Hemoglobin molecule by Potassium Isoncyanate in pH low alkaline, forming the Methaemoglobin which is converted in Cyanomethaemoglobin after the reaction with the Potassium Cyanate. The reddish color is proportional to the Hemoglobin concentration presented in the sample.

REAGENTS

Number 1 - Stock Color Reagent - Store between 15 and 30°C. Contains: Phosphate buffer < 300 mmol/L, Potassium Ferricyanide < 240 mmol/L, Potassium Cyanide < 300 mmol/L and surfactant.

Handle this reagent very carefully, toxic agent.

PRESENTATION

Reagent	Volume
Nº1	2 x 10 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometers or colorimeter, watch or stopwatch, pipettes, test tubes, volumetric balloon and **Bioclin** Standard Hemoglobin Kit. They can be found at markets specialized in laboratories of clinical analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage and transport temperatures should be between 15 and 30°C. Protect from light and avoid moisture.

SPECIAL CARE

- 1- **For professional *in vitro* diagnostic use only.**
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
- 3- Water used in cleaning must be recent and free of contaminants.
- 4- Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.
- 5- When preparing the Working Reagent, bubbles can emerge, and it is totally normal. However, should be avoided, because it difficults the meniscus accuracy.
- 6- It is of great importance that the flask storing the Working Reagent do not contain acid, base or organic solvents such as detergents.
- 7- The Working Reagent and the residual reactions can never be left in presence of acid reagents, because they lead to the formation of toxic gases.
- 8- The total blood, when collected in oxalate or its mixtures demands a larger time interval, so the reading can be carried out.
- 9- The blood sample can be homogenized properly before pipette.
- 10- The tips of automatic pipettes must be clean, dry and in physical use conditions.
- 11- The color reagent can not be used if show change in the color.
- 12- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
- 13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
- 14- Do not use the product in case of damaged packaging.
- 15- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Total blood obtained free of hemolysis, collected with EDTA, citrate or oxalate. Stable for 7 days between 2 and 8°C.⁷

PROCESS DESCRIPTION

The calibration stability of the Hemoglobin kit installed in refrigerated equipment is 6 months. This stability may vary depending on test conditions, equipment and environment. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using control sera.

WORKING REAGENT PREPARATION

In a 1 liter volumetric balloon place approximately 500 mL of distilled or deionized water. Transfer the whole content of the Stock Color Reagent flasks, washing it 3 times with distilled or deionized water, transferring the washing waters to the same balloon. Complete the volume of 1.000 mL with distilled or deionized water. Store it in a amber flask to the environment temperature, protect from direct light and moisture. Stable for 6 months between 15 and 30°C.

TECHNIQUE

Mark test tube "S" (Sample) and proceed as follows:

	Sample
Working Reagent	2,5 mL
Whole Blood	10 µL

Homogenized and wait 5 minutes at environment temperature, carry out the reading at 540 nm (520 - 550 nm) matching the zero with the working reagent. The color reaction is stable for 60 minutes.

CALCULATIONS

To calculate the value in g/dL see the instructions contained in **Bioclin** Standard Hemoglobin kit.

Calibration Factor = $\frac{\text{Standard Concentration}}{\text{Standard Absorbance}}$

Hemoglobin = Sample Absorbance x Calibration Factor (g/dL)

PROCEDURE LIMITATIONS

The Color Reagent contains Cyanate. Handle carefully. **Toxic.**

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

REFERENCE VALUES

The reference values in g/dL, for this method, were obtained through the determination of the hemoglobin in healthy populations of male and female.

Men12,5 to 17,5 g/dL

Women11,5 to 15,5 g/dL

To convert g/dL to mmol/L values, multiply it by 1,61. These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE

QUALITY CONTROL

Accuracy

COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGY SPECIFICITY

The Hemoglobin kit was compared with other commercially available methods for measurement of hemoglobin. 07 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 1,008X - 0,107$, with correlation coefficient 0,999. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (g/dL)	9,92	13,12	17,05
Standard Deviation (g/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficient of Variation (%)	0,08	0,05	0,08

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (g/dL)	9,92	13,12	17,05
Standard Deviation (g/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficient of Variation (%)	0,06	0,04	0,03

Sensitivity

Sensitivity was calculated from 20 determinations of a sample free of hemoglobin. The average found was 0,329 g/dL and the standard deviation of 0,001 g/dL. The sensitivity, which indicates the method detection limit, corresponds the average plus 3 times the standard deviation and is equal to 0,330 g/dL.

Linearity

The reaction is linear up to 20 g/dL.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Hemoglobin is a protein present inside the red blood cells and has as its main function the transport of oxygen from the lungs to the cells of the body. Its determination is important for the diagnosis and control of anemia, polycythemia, dehydration, hemorrhages, nutritional deficiencies, eryomatous lupus, among others.

NUMBER OF TESTS

800 Tests / 10 µL of Sample / 2,5 mL of Reagent

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1 - HENRY, R. J., Clinical Chemistry – Principles and Technics – Hoeber Division, Haper and Row, New York.
- 2 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 9:217, 1983.
- 3 - DRABKIN, D. L., Austin, J. H., J. Biol. Chem. , 112:51, 1935.
- 4 - BARON, D. N., Bioquímica de la Patología Médica Ediciones Toray S/A – Barcelona.
- 5 - Internacional Committe for Standartization in Haematology: Recommendations for Haemoglobino-metry in Human Blood: Brit., J. Haemat., 13 (suppl.) 71, 1967.
- 6 - Word Health Organization, International Biological Reference Preparations 1968. W. H. O. Techn. Rep. Ser. 384, 85, 1968.
- 7 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 8 - QUIBASA: Dados do departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

EC REP **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454.
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Hemoglobin kit: 10269360097

Review: October/2021