



高铁血红蛋白 (MetHb) 测试盒说明书(精简版)

(货号: A102-1)

一、试剂组成及配制: (试剂盒有效期 6 个月)

试剂组成	成分	A102-1-1 50T/48 样	A102-1-2 100T/96 样	保存
试剂一	血红蛋白测定 浓缩液	1mL×2 支	1mL×4 支	4℃
	临用前将浓缩液用双蒸水 1:99 稀释, 即 100 倍稀释配成 血红蛋白测定应用液 , 现用现配。配好的试剂 2~8℃避光保存, 可存放 1 个月。			
试剂二	高铁血红蛋白测定 浓缩液	30mL×1 瓶	60mL×1 瓶	4℃
	用时按浓缩液: 双蒸水=1:9 稀释, 即 10 倍稀释配成 高铁血红蛋白测定应用液 , 配好后可存放 6 个月。			
试剂三	还原血红蛋白曲线 粉剂	1 支	1 支	4℃ 避光
	还原血红蛋白曲线 粉剂稀释液	1mL×1 支	1mL×1 支	4℃
	临用前每支粉剂加入 1 支稀释液配成 试剂三应用液 , 现用现配, 注意避光。			
试剂四	高铁血红蛋白曲线 粉剂	1 支	1 支	4℃ 避光
	高铁血红蛋白曲线 稀释液	1mL×1 支	1mL×1 支	4℃
	临用前每支粉剂加入 1 支稀释液配成 试剂四应用液 , 现用现配, 注意避光。			

二、检测意义:

体内一氧化氮弥散入血后, 很快与氧合血红蛋白结合形成高铁血红蛋白 (methemoglobin, MetHb), NO 与 MetHb 变化相关, 故全血 MetHb 检测近年来受到临床的广泛重视。同时血液中高铁血红蛋白含量的测定对接触芳香族氨基、硝基化合物所引起的中毒性疾病的诊断与治疗, 有重要的意义。

三、测定原理:

高铁血红蛋白在 630nm 波长处有一特征吸收峰, 而高铁血红蛋白 (MetHb) 和还原血红蛋白 (Hb) 在 602nm 波长处光密度值相等, 利用此关系可以通过相应的公式算出高铁血红蛋白含量。

四、所需仪器及试剂:

可见分光光度计及 1cm 光径比色皿, 蒸馏水, 试管或离心管, 涡旋混匀器。

五、操作步骤:

- 制备抗凝全血:** 取全血立即加入到肝素抗凝管内, 加盖封口, 轻轻颠倒混匀。
- 血红蛋白含量的测定:** 取 0.01mL 全血与 2.5mL 的 100 倍稀释的试剂一应用液 (血红蛋白测定应用液), 混匀, 静置 5 分钟后, 1cm 光径, 双蒸水调零, 540nm 处测定各管吸光度值。
- 高铁血红蛋白测定:** 取 0.05mL 全血, 加入 2.5mL 的试剂二稀释应用液 (即高铁血红蛋白测定应用液), 混匀, 静置 5 分钟后, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测定 630nm 处及 602nm 处吸光度值。如果没有双波长的分光光度计则可以先测定各管 630nm 处吸光度值, 然后再测各管 602nm 处吸光度值。但一定要注意各管的编号不要弄错。

六、计算公式:

①、血红蛋白含量的计算:

$$\text{血红蛋白含量 (g/L)} = A_{540\text{nm}} \times 367.7$$

②、高铁血红蛋白百分比计算:

$$\text{MetHb\%} = \frac{A_{630\text{nm}} - r \times A_{602\text{nm}}}{A_{602\text{nm}} \times (R - r)} \times 100\%$$

③、高铁血红蛋白含量的计算:

$$\text{高铁血红蛋白含量 (g/L)} = \text{MetHb\%} \times \text{血红蛋白含量 (g/L)}$$

【注 1】 A_{630} 即在 630nm 波长时样本的吸光度值; A_{602} 即在 602nm 波长时样本的吸光度值

【注 2】 R 与 r 均为常数, $R=1.81$; $r=0.14$ 。(本研究所测定常数)

即计算公式可以简化为:

$$\text{MetHb\%} = \frac{A_{630\text{nm}} - 0.14 \times A_{602\text{nm}}}{A_{602\text{nm}} \times 1.67} \times 100\%$$

②、高铁血红蛋白含量的计算:

$$\text{高铁血红蛋白含量 (g/L)} = \text{MetHb\%} \times \text{血红蛋白含量 (g/L)}$$

七、注意事项:

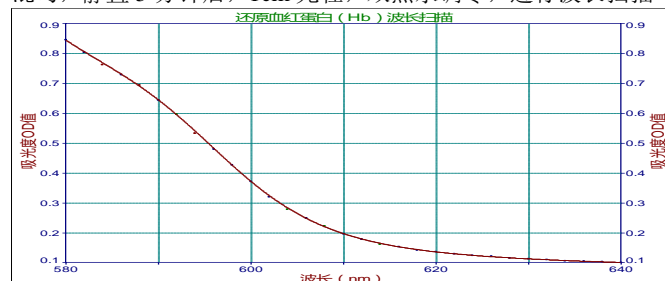
- 取血后应在 1 小时内完成实验, 否则影响测定结果, 因为红细胞中的还原酶可使高铁血红蛋白逐渐还原, 使结果降低。但可放 -20℃ 以下冷冻保存, 如果血样较多, 可将全血分成几小管, 每次测试可取其一小管, 余下各管仍保存 -20℃ 以下以备重复测试, 其结果不受影响。
- 本实验可用双波长分光光度计测定, 可同时测定 602nm 处及 630nm 处吸光度值, 进行计算。也可用单波长分光光度计测定, 可以先测定各管 630nm 处吸光度值, 然后再测各管 602nm 处吸光度值。但一定要注意各管的编号不要弄错。
- 如果您实验室分光光度计没有双波长扫描功能, 可以不做标准曲线, 直接用本所实验室 R 与 r 均为常数, $R=1.81$; $r=0.14$ 。
- 所用器皿要干净。

九、特征波峰的扫描:

○ 还原血红蛋白波长扫描曲线:

加入物	还原血红蛋白管
全血 (mL)	0.02
试剂二应用液 (mL)	2.50
试剂三应用液 (mL)	0.05

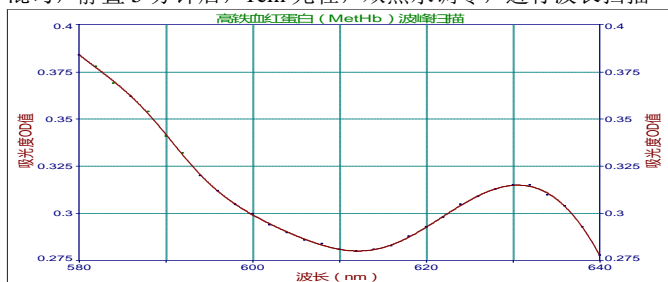
混匀, 静置 5 分钟后, 1cm 光径, 双蒸水调零, 进行波长扫描



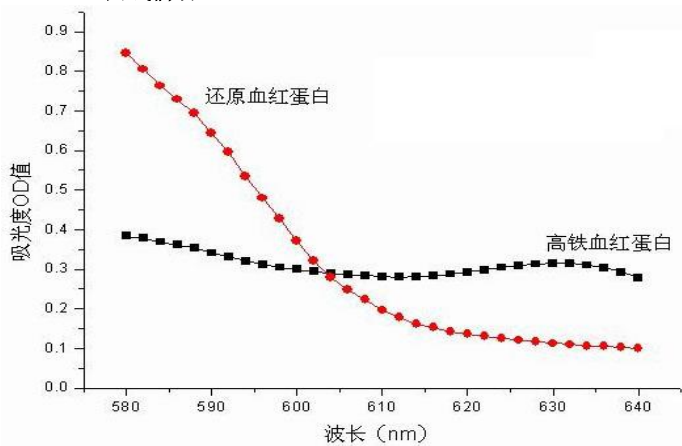
○ 高铁血红蛋白波长扫描曲线操作:

加入物	高铁血红蛋白管
全血 (mL)	0.02
试剂二应用液 (mL)	2.50
试剂四应用液 (mL)	0.05

混匀，静置 5 分钟后，1cm 光径，双蒸水调零，进行波长扫描



○ 曲线拼合:



高铁血红蛋白 (MetHb) 和还原血红蛋白 (Hb) 波长扫描曲线相交于 602nm 处,即高铁血红蛋白 (MetHb) 和还原血红蛋白 (Hb) 在 602nm 波长处光密度值相等