



# 内源性一氧化碳（CO）测试盒说明书(精简版)

（货号：A101-1-1 测全血 50T/48样）

## 一、检测意义：

一氧化碳（carbon monoxide, CO）是与一氧化氮（NO）极相似的小分子气态物质。90年代以来的大量研究揭示，生物体内源性CO不仅作为一种新型的神经递质参与中枢神经系统的信息传递，还具有舒张血管、抑制血管平滑肌和血管内膜增殖、抑制血小板聚集、调节体内激素分泌、抑制细胞凋亡等多种生物学功能，在机体多种生理及病理状态中发挥重要的作用。

## 二、测定原理：

根据碳氧血红蛋白（HbCO）和还原血红蛋白（Hb）吸收光谱的差异，选择HbCO吸光度之差最大而Hb吸光度之差为零的两个波长，应用双波长分光光度法测定样本在这两个波长下的吸光度差值（ $\Delta OD$ ），再通过标准曲线求出HbCO百分浓度，代入公式计算出内源性一氧化碳（CO）含量。

## 三、试剂组成及配制：（试剂盒有效期6个月）

**试剂一：**溶血剂，100mL×1瓶，4℃保存。

**试剂二：**缓冲液，100mL×2瓶，4℃保存。

**试剂三：**碳氧血红蛋白测定粉剂×6瓶，4℃避光密封保存。

临用前，往每瓶测定粉剂中加入23mL试剂二缓冲液，加盖颠倒混合，使完全溶解配成**碳氧血红蛋白测定工作液**，现用现配，用几瓶配几瓶，2小时内用完，用黑袋注意避光。

**试剂四：**制作HbCO百分曲线用的还原粉剂×6支，4℃避光密封保存。

**试剂五：**血红蛋白Hb测定浓缩液，2mL×1支，4℃避光密封保存。临用前将浓缩液用蒸馏水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个月以上。

## 四、所需仪器耗材及试剂：

可见光分光光度计及1cm光径比色皿，台式低速离心机，各种规格移液器，蒸馏水，涡旋混匀器，试管或离心管。

## 五、操作步骤：

### 1、全血中血红蛋白Hb测定及计算：

取0.01mL样本（全血）与2.5mL的100倍稀释的试剂五应用液（血红蛋白测定应用液），混匀，静置5分钟后，1cm光径蒸馏水调零，540nm测定各管吸光度值。

#### 血红蛋白含量的计算：

血红蛋白克数/升 = 540nm处吸光度值 × 367

### 2、样本前处理

①、**肝素抗凝全血的制备：**取末梢血立即加入到肝素抗凝管内，加盖封口，轻轻搓动，制成肝素抗凝全血，2~8℃保存。

②、**溶血液的制备：**取抗凝全血10 $\mu$ L，加入试剂一溶血剂1.2mL混匀，静置5分钟，使溶血完全，待测。（如果你的样本量很少并很珍贵，可按样本：试剂一溶血剂=1:120进行稀释并溶血）

### 3、全血中碳氧血红蛋白测定

①、取经过前处理的样本（全血经前处理制备的溶血液）0.2mL，加入试剂三**碳氧血红蛋白Hb测定工作液**2.3mL，混匀。

②、静置10分钟后，试剂二缓冲液调零，1cm光径，分别测568nm与581nm的吸光度。

## 六、碳氧血红蛋白（HbCO）百分浓度曲线：

【可自行制作HbCO百分浓度曲线，也可参照本所提供的HbCO百分浓度曲线】

### ○ 饱和碳氧血红蛋白与饱和还原血红蛋白的制备

1、取不吸烟健康人肝素抗凝全血10 $\mu$ L，加入试剂一溶血液1.2mL混匀，静置5分钟使溶血完全。

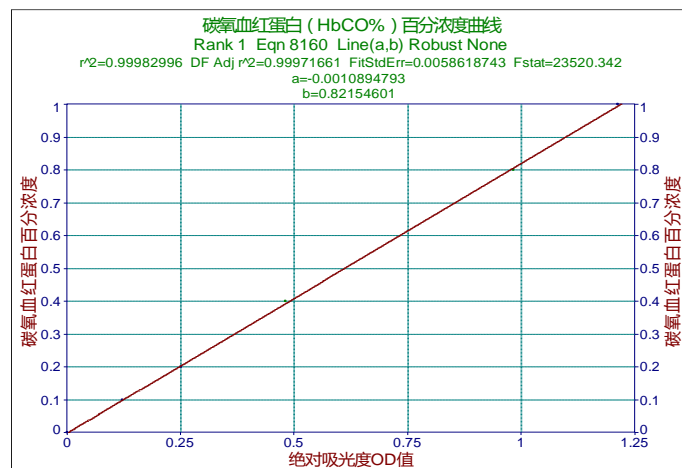
2、从中取2份，每份0.2mL，加入到两支具塞试管中，再分别加入2.3mL试剂二缓冲液，混匀。

3、在通风橱内，向其中一支试管中通纯一氧化碳（CO），连续通15分钟，再通入氮气20分钟，得到饱和HbCO溶液。

4、再向另一支试管通氧气（O<sub>2</sub>），连续通20分钟，得到饱和HbO<sub>2</sub>溶液。

### ○ 碳氧血红蛋白百分浓度曲线的制备

管号	1	2	3	4	5	6
饱和HbCO溶液（mL）	0	0.25	0.50	1.00	2.00	2.50
饱和HbO <sub>2</sub> 溶液（mL）	2.50	2.25	2.00	1.50	0.50	0
试剂四还原粉剂	1支	1支	1支	1支	1支	1支
混匀，静置10分钟，试剂二调零，1cm光径，分别测568nm与581nm的吸光度						
HbCO百分浓度	0%	10%	20%	40%	80%	100%
$\Delta OD (A_{568}-A_{581})$	0	0.122	0.251	0.481	0.984	1.213



注：根据拟合曲线， $a=0.001$ ， $b=0.822$ 。故回归方程为  $y = 0.822x + 0.001$

## 七、计算公式：

### ○ 碳氧血红蛋白百分浓度（HbCO%）的计算：

通过分别测定568nm与581nm的吸光度，计算 $\Delta OD (A_{568}-A_{581})$ 的绝对吸光度值差。再由标准曲线，通过回归方程计算出碳氧血红蛋白百分比浓度，即HbCO%。

【注1】如不直接制作百分浓度曲线，也可参照本所提供的百分浓度曲线，回归方程为： $y = 0.822x + 0.001$  x即为 $\Delta OD (A_{568}-A_{581})$ 的绝对吸光度值，y即为碳氧血红蛋白百分比浓度。

$HbCO\% = [0.822 \times \Delta OD (A_{568}-A_{581}) + 0.001] \times 100\%$

【注2】A<sub>568</sub>为HbCO吸光度之差最大的波长；A<sub>581</sub>为Hb吸光度之差为零的波长

### ○ 溶血液中Hb的测定步骤及计算公式：

取0.01mL全血样本与2.5mL的100倍稀释的试剂五应用液（血红蛋白测定应用液），混匀，静置5分钟后，1cm光径蒸馏水调零，波长540nm测定各管吸光度值。



**血红蛋白含量的计算：**

血红蛋白克数/升 = 540nm处吸光度值 × 367.7

**○ 全血中一氧化碳（CO）含量的计算公式：**

全血中一氧化碳（CO）含量  $\frac{\text{HbCO}\% \times \text{Hb (g/L)} \times 10^6 \times 4}{64456}$   
( $\mu\text{mol/L}$ )

**【注】** 64456 为 Hb 分子量；4 表示一个 Hb 结合四个 CO。