DETERMINAÇÃO DE METEMOGLOBINA EM SANGUE

AMOSTRA

Sangue.

Colher a amostra, usando heparina como anticoagulante. Adicionar água destilada (2,2 mL para 0,8 mL de sangue) e misturar com 1 mL da solução tampão-fosfato. Nestas condições a amostra pode ser guardada sob refrigeração por 24 horas.

MATERIAL

1. Espectrofotômetro para região do visível
2. Solução de $K_3Fe(CN)_6$ 5% (Ferricianeto de Potássio)
   Conservar em frasco escuro e preparar mensalmente
3. Solução tampão-fosfato 0,5 mol/L, pH 7,2
   Misturar 7,0 mL de NaOH 0,5 mol/L e 10 mL de KH_2PO_4 0,5 mol/L
4. Reativo ferricianeto-fosfato (na hora da leitura). Misturar 0,2 mL da solução 2 e 2,5 mL da solução 3 e completar até 10 mL com água destilada. Preparar diariamente.
5. Cianeto de sódio, solução 10% de preparo recente.
6. Ácido acético, solução 12%.
7. Solução de cianeto neutralizada (na hora da leitura). Misturar 1 mL da solução 5 com 0,9 mL da solução 6. Usar no prazo máximo de 6 horas.
8. Triton X-100.

TÉCNICA

1. Adicionar na amostra uma gota de Triton X-100 e agitar até completa hemólise.
2. Deste tubo, transferir 2,4 mL para uma cubeta (I) e 0,2 mL para outra cubeta (II), esta contendo 2,2 mL da solução 4.
3. Efetuar a leitura das absorbâncias AI e AII, em 632nm, contra branco de água.
4. Adicionar 0,100 mL ou 100 µL da solução 7 às duas cubetas, misturar e, após 1 minuto, efetuar novamente a leitura das absorbâncias obtendo-se AIII e AIV.
5. Calcular a metemoglobina, expressando-a em porcentagem da Hb total, a partir da fórmula seguinte:

$$\%\mathrm{MeHb} = \frac{(\mathrm{AI} - \mathrm{AIII}).100}{(\mathrm{AII} - \mathrm{AIV}).12}$$

INTERPRETAÇÃO

O valor de referência (VR) de metemoglobina, determinado na região sul de Minas Gerais foi de 0,73± 0,25 % (média ± dp) e o valor de referência superior de 1,23%.

O Índice Biológico Máximo Permitido (IBMP) de metemoglobina para a exposição ocupacional aos metemoglobinizantes no Brasil é de 5,0%.

BIBLIOGRAFIA

1. HEGESH, E.; et al - A sensitive micromethod for the determination of methmoglobin in blood. *Clin Chem. Acta,* v.30, p. 679-682, 1970.
2. SIQUEIRA, M.E.P.B. et al - Valores de referência para metemoglobina na região sul de Minas Gerais. *Revista Bras. Toxicologia*, v.10, p.5-9, 1997.