

## CLINICAL SIGNIFICANCE

Sickle cells are RBC having abnormal hemoglobin called Hb-S which reduces the oxygen carrying capacity of Hemoglobin in blood circulation lead to various diseases called sickle cell anemia. The homozygous variants are with symptomatic where as heterozygous form of sickle cell diseases is asymptomatic called sickle cell trait. Patient with homozygous variants may have early mortality with vascular occlusion of multiple organs, severe hemolytic anemia and hypoxia. Patient with asymptomatic sickle cell disease may suffer sickle cell crisis such as hypoxia on anesthesia, during poorly pressurized air plain traveling, high altitude mountaineering or during pneumonia.

## PRINCIPLE

Hb-S precipitates in higher molar buffered medium in presence of Dithionate and detergent leaving non-sickling hemoglobin soluble which is free from turbidity. Whereas Dithionate reduced HbS get precipitated and form translucent in the test system.

## Kit Content

1. Reagent R1	100 mL
2. Reagent R2	1 bottle
3. Test Tubes and caps	50 nos
4. Reagent transfer pipette	1 No
5. Rapid Sickle Cell Reader rack	1 No
6. Pack insert	1 No

## REAGENTS COMPOSITION

### Reagent 1 : R1

di-Potassium phosphate	2.3 mol/L
Detergent	0.4 g/L
pH7.1(±0.1) Contain Stabilizers and preservatives.	

### Reagent 2 : R2

Dithionate	57 mmol/L
White Saponins	1 %

## Working Reagent Preparation

Transfer content of one Vial of R2 to a bottle of R1 and mix gently for 15 mins. Make sure that entire content of R2 is transferred to R1. Label date of reconstitution.

## STORAGE AND STABILITY

When stored at room temperature and protected from light, the reagent is stable 12 months from the manufacturing date stated on the label. Working reagent is stable for 15 days at ambient room temperature, 6 months at 2-8°C. **Do not freeze or expose to light.** Discard deteriorated working reagent that turns yellowish when mixed with blood.

## SAMPLES

No Prior patient preparation is needed. Use fresh blood collected from clean finger prick or in EDTA. More accuracy may be achieved if the test is performed with Packed cells by leaving the sample for 30 minutes undisturbed; RBC sediment can be collected from the bottom of sample container. Sample can be stored for a week at 4 to 8 °C if the test needs to perform at a later time. (All samples should be handled as potential infective agents as no laboratory methods make conclusive finding for its safety. Therefore, adequate protective laboratory measures should be taken while handling such materials).

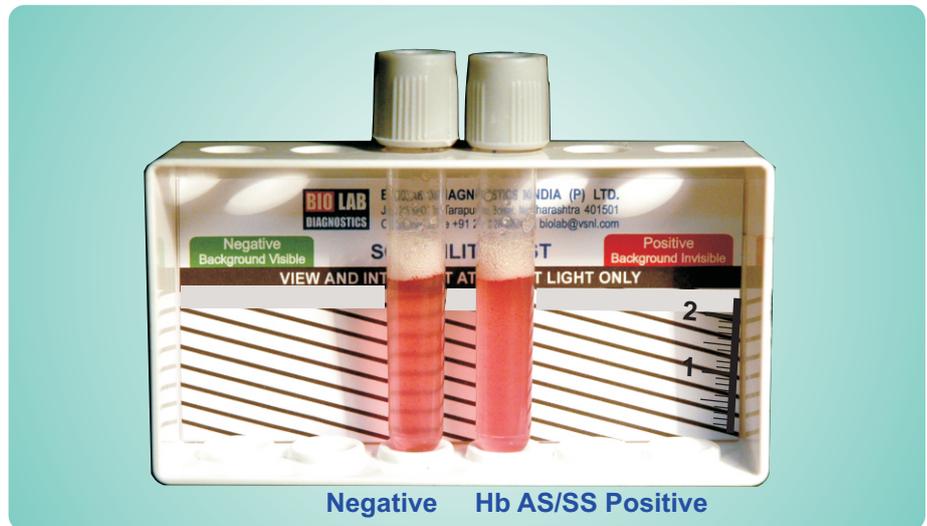
**Note.** Strong lipemic or hemolysed blood sample should not be used.

## PROCEDURE

1. Label each test tube with patient ID and pour 2 mL Working reagent in all the tubes using reagent transfer pipette.
2. Collect one drop (20 µL) of patient blood using a pipette tip connected to an appropriate adaptor or pipette. Mix well and wait for 10 minutes at room temperature ( stable for an hour), mix and interpret the result as given under.

**\* Sample having very low (< 7g%) hemoglobin perform test with 2 drops (40 µL) in place of one drop (20 µL) of blood.**

## INTERPRETATION OF RESULT



Mix the tubes and observe a Negative test as transparent to see the background in Rapid Sickle Cell Reader rack. Where as the background is not visible in positive sample (HbAS or SS) given as above.

## RESULTS VISUAL

Observe the result after 10 minutes of sample mixing. A positive sickling test indicates relatively less transparent than negative control while viewing in Rapid Sickle Cell Reader rack (refer interpretation of result column). Run a known negative & positive blood sample of similar hemoglobin concentration as negative and positive control for comparison. A positive or doubtful result must be reconfirmed with Hb Electrophoresis.

## INTERPRETIVE VALUES

### Strong Turbid

Homozygous for Sickling Hb - > 75 % of Total Hb %

### Weak Turbid

Heterozygous (Trait) for Sickling Hb - > 40 to < 70 % Total Hb %

### Faint Turbid

Insignificant - < 25 % Total Hb %  
(Re-assay with 2 drops blood)

**Note:** It is recommended for each laboratory to establish and maintain its own reference values. The above values are only an indication and to be confirmed through Electrophoresis.

## LIMITATION

Solubility test is only a screening method. This method is not a substitute to Hb Electrophoresis. A variant of Hb C – Harlem interfere this test. Recent blood transfusion may alter the results. Higher Hb F lead to false positive test result and very anemic or sample with less RBC may lead to false negative observation. Borderline Hb AS or Hb SS need to be interpreted with professional experience. Proper visibility needs appropriate illumination. Interpretation of result at inadequate light may lead to false results. Sample having very low (< 7g%) hemoglobin may lead to false negative. Repeat test using 2 drops (40 µL) in place of one drop (20 µL) of blood.

## WARNING

This reagent system is for in vitro use Only. This reagent system contains preservatives and components that have not established for safety if contacted on broken skin or eye or taken orally. In case of such incidents wash off with plenty of water and consult a physician.

## QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control, each analysis should be tested against known positive and negative blood samples.

## BIBLIOGRAPHY

1. Nalbandian R. M.; Clin. Chem 17; 1028-1032, 1971.
2. Yakulis V. J., and Heller P.; Blood 24; 198, 1964.
3. Heller P., and Yakulis, V. J.A.M.A., 203;188, 1968.
4. Norbert Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry, WB Saunders, Philadelphia PA 3<sup>rd</sup> ed. Page 1678(1999)

**रासायनिक वैशिष्ट्ये :** सिकल सेल हे शरीरातील लालरक्त पेशींची कार्य असंतुलित करतात. यालाच एचबी-एस म्हणतात. या रक्त पेशीतील हिमोग्लोबिनची ऑक्सीजन वाहून नेण्याची क्षमता कमी करते त्यामुळे या रक्तपेशींचे कार्य असंतुलित होते, यालाच सिकल सेल एनिमिया म्हणतात.

### किट सामग्री :

१. रिएजन्ट आर १	१०० मिली
२. रिएजन्ट आर २	१ बॉटल
३. रिएजन्ट आर ३	१ बॉटल
४. टेस्ट ट्युब आणि कॅप	५० नग
५. यलो टिप्स २०-२०० μL	५० नग
६. ब्लू टिप्स २००-१००० μL	१० नग
७. रिएजन्ट ट्रान्स्फर पीपेट २० μL	१ नग
८. रॅपिड सिकल सेल ट्युब स्टॅंड	१ नग
९. पॅक इन्सर्ट	१ नग

### द्रव्य विभाजन

द्रव्य : १	
फॉस्फेट बफर	- पर्याप्त गुणवत्ता
द्रव्य : २	
डॉयथायोनेट	- पर्याप्त गुणवत्ता
द्रव्य : ३	
व्हाईट सोपोनिन	- पर्याप्त गुणवत्ता

### द्रव्य मिश्रणाची तयारी :

द्रव्य २ आणि द्रव्य ३, द्रव १ मध्ये योग्य प्रकारे एकत्र करून १५ मिनिटे ठेवावे. वरील दिलेले मिश्रण योग्य प्रकारे एकत्र केले आहे का याची नोंद घ्या. मिश्रणाला तारखेची नोंदणी करावी.

**द्रव्याची स्थिरता :** जर द्रव्य साधारण तापमान आणि प्रकाशापासून सुरक्षित केले तर ते द्रव्य तयार केलेल्या तारखेपासून ते दोन वर्षांपर्यंत टिकून राहू शकते. ते द्रव्य शीत पेटीत किंवा प्रकाशात उघडे ठेवू नये. जे द्रव्य खराब झालेले असते ते रक्तात मिसळले असता पिवळसर होते. तयार केलेले द्रव्य मिश्रण बनविलेल्या तारखेपासून १५ दिवसांपर्यंत साधारण तापमानात टिकून राहू शकते.

### सावधानी (धोक्याची सूचना)

द्रव्य पद्धतीमध्ये जे मिश्रण तयार होत असेल तर ते आपली त्वचा किंवा तोंडाद्वारे आपल्या संपर्कात आले. तर ते आपल्यासाठी सुरक्षित नसते. जर का ते द्रव्य आपल्या संपर्कात आले तर ते लगेच पाण्याने ते धुवून काढावे आणि डॉक्टरांशी संपर्क साधावा.

### नमुना (सॅम्पल) :

रुग्णांना पूर्व तयारी करण्याची आवश्यकता नाही. नुकतेच काढलेले रक्त टेस्टिंग साठी वापरा. किंवा इडीटिए मध्ये घेतलेले रक्त वापरू शकतात. सॅम्पलला ४ ते ८ डिग्री सेल्सियसमध्ये एका आठवड्यापर्यंत ठेवलेले असले तरी त्याचा वापर करू शकता.

**कार्यपध्दती :** प्रत्येक परीक्षानळी वर रुग्णाचे नाव लिहावे व त्या परीक्षानळीमध्ये तयार केलेले द्रव्य २ mL घ्यावे. आणि ते प्रत्येक परीक्षानळीत सारखेच टाकावे.

घेतलेल्या द्रव्यामध्ये २० μL रुग्णाचे रक्त टाकावे व द्रव्य मिक्स (एकत्र) करावे. आणि १० दहा मिनिटे साधारण तापमानात ठेवावे आणि मिश्रण एकत्र झाल्यानंतर त्या द्रव्याचे निरीक्षण करावे.

**नोंद :** ज्या रुग्णांमध्ये हिमोग्लोबिनचे प्रमाण ७ ग्रॅम पेक्षा कमी असल्यास वरील क्रिया करण्यासाठी रक्ताचा १ थेंब (२० μL) घेण्याऐवजी २ थेंब (४० μL) घ्यावे.

### परिणामाचा रिझल्ट



**परिष्करण १० मिनिटांनंतर पहा.** ट्युब मिक्स करा. टेस्ट पाहण्यासाठी किटमध्ये दिलेल्या रॅपिड सिकल सेलच्या टेस्ट ट्युब स्टॅंडचा वापर करावा. दिलेल्या स्टॅंड मध्ये टेस्ट ट्युब ठेवाव्यात आणि दिलेल्या स्टॅंडच्या समोरच्या बाजूने निरीक्षण करावे. जर सॅम्पल निगेटीव्ह असेल तर लेबल बायग्राऊंडच्या लाईन्स दिसतात. आणि पॉझिटिव्ह असेल तर लेबल बायग्राऊंडच्या लाईन्स दिसत नाहीत. (एचबीएस / एचबीएसएस) (HbAS / HbSS) वरील दिल्या प्रमाणे.

**नोंद :** जास्त तीव्रता लायपेमिक आणि हिमोलाईड रक्ताचे सॅम्पल वापरू नका.

**लिमिटेशन :** सोल्युबिलिटी टेस्ट ही स्क्रीनिंग पद्धत आहे. ही पध्दत हिमोग्लोबिन इलेक्ट्रोफोरेसिसची सबस्टीट्यूट नाही. वेगळ्या प्रकारचे हिमोग्लोबिन सी (Hb C) या टेस्ट मध्ये ढवळाढवळ करतात. नुकतेच चढवलेले रक्त चाचणीमध्ये बदल करतात. जास्त तीव्रता असलेले हिमोग्लोबिन एफ (Hb F) फॉल्स पॉझिटिव्ह चाचणी दाखविण्याची शक्यता आहे. जास्त प्रमाणात रक्ताची कमी असलेल्या रुग्णाला फॉल्स निगेटिव्ह चाचणी दाखवते. सुरुवातीच्या (Hb SS) टेस्ट चाचणी करण्यासाठी टेक्निशियनला जास्त अनुभव असावा. टेस्ट बघण्यासाठी जास्त प्रकाशाची आवश्यकता आहे. प्रकाशाच्या कमतरतेमुळे चाचणी चुकीची येण्याची शक्यता आहे. जर रुग्णांमध्ये हिमोग्लोबिनचे प्रमाण ७ग्रॅम टक्क्यांपेक्षा कमी असल्यास चाचणी फॉल्स निगेटिव्ह येण्याची शक्यता आहे. टेस्ट पुन्हा करण्यासाठी रक्ताचा १ थेंब (२० μL) घेण्याऐवजी २ थेंब (४० μL) घ्यावे.

### निर्णयात्मक मूल्य :

१. स्ट्रॉंग टर्बिड : होमोझायगस सिकल एचबी (Hb)- एकूण (Hb) टक्के पेक्षा ७५ टक्के जास्त
२. विक टर्बिड : हॅट्रोझायगस (ट्रेट) सिकल एचबी (Hb)- एकूण (Hb) टक्के पेक्षा ४० टक्के जास्त ते ७० टक्के पेक्षा कमी

३. फेन्ट टर्बिड : महत्व नसल्याचे - एकूण (Hb) टक्के पेक्षा २५ टक्के कमी (दोन थेंब रक्ताचे घ्या आणि वरील क्रिया पुन्हा करा.)

**नोंद :** प्रत्येक लॅबोरेटरीवाल्यांनी स्वतःच्या माहितीसाठी पॉझिटिव्ह आणि निगेटिव्ह चाचणीची मूल्यतः ठेवावी. वरील मूल्यतः इलेक्ट्रोफोरेसिसवर पुन्हा एकदा पडताळून पहावे.

### ग्रंथ सूची :

१. नलबंदीयन आर. एम.; क्लिनिकल केमिस्ट्री १७; १०२८-१०३२, १९७९
२. याकुलीस व्ही. जे. आणि हेलर पी.; ब्लड २४; १९८, १९६४
३. हेलर पी. आणि याकुलीस, व्ही. जे. ए. एम. ए., २०३; १८८, १९६८.
४. नोर्बर्ट टीझ, फंडामेन्टल् ऑफ क्लिनिकल केमिस्ट्री डब्ल्युबी सौंदर्स, फिलाडेलफीया पीए ३ ईडी. पान १६७८ (१९९९)