

## METODA SIMPLĂ DE APRECIERE A HEMATOCRITULUI ÎN SPOTURI USCATE DE SÂNGE

Igor Casian, Ana Casian

Centrul Științific al Medicamentului, USMF „Nicolae Testemițanu”

**Introducere.** Prelevarea și transportarea sângelui capilar în formă de spoturi uscate (DBS) este mai comod comparativ cu sângele venos. Totodată, nivelurile multor metaboliți, analizați în DBS, diferă de cele plasmatic și necesită recalcularea lor după valorile hematocritului (Hct). Ultimul nu poate fi măsurat direct în DBS, dar poate fi apreciat după nivelul de hemoglobină (Hb). Una din cele mai simple metode de măsurare a Hb, bazată pe transformarea ei în clorhidrat de hematină, este aplicabilă pentru sânge lichid, dar în cazul DBS se reduce extracția hematinei. **Scopul lucrării.** Crearea unei metode optimizate, care va asigura extracția completă a hematinei din DBS, totodată va permite determinarea și altor metaboliți în același disc, decupat din DBS. **Material și metode.** Spectrofotometru Lambda 25 (Perkin Elmer), reactivi și solvenți (Sigma-Aldrich). Probele model cu diferite valori de Hct au fost preparate din sânge de la donatori. Discurile din DBS, intacte sau după extracția aminoacizilor cu metanol-apă (2:1) sau acid percloric 3%, s-au tratat cu acid formic (metoda propusă) sau acid clorhidric 0.02 M (metoda de referință) cu agitare timp de 60 min. Hematina s-a măsurat în extracte după absorbanța optică la 520 nm. **Rezultate.** La utilizarea acidului formic plenitudinea extracției hematinei a atins valorile  $92.9 \pm 1.0\%$  din DBS intacte,  $97.9 \pm 0.3\%$  după extracția cu metanol apos și  $96.5 \pm 0.5\%$  după extracția cu acid percloric. La aplicarea metodei de referință aceste valori au constituit respectiv  $76.1 \pm 0.8\%$ ,  $74.4 \pm 1.4\%$  și  $49.2 \pm 2.1\%$ . Răspunsul analitic pentru metoda propusă este linear în diapazonul Hct de la 0.19 până la 0.65. **Concluzii.** S-a elaborat o metodă simplă, ce permite aprecierea sigură a nivelului de Hct în DBS, inclusiv după extragerea altor metaboliți analitici. **Cuvinte-cheie:** hematocrit, spoturi uscate de sânge, spectrofotometrie.

## SIMPLE METHOD FOR ESTIMATION OF HEMATOCRIT IN DRIED BLOOD SPOTS

Igor Casian, Ana Casian

Scientific Center for Drug Research, Nicolae Testemițanu University

**Background.** Collecting and transporting capillary blood in the form of dried spots (DBS), is more convenient compared to venous blood. At the same time, the levels of many metabolites, analyzed in DBS, differ from the plasma levels, and require their recalculation according to the hematocrit (Hct) values. The latter cannot be measured directly in DBS but can be estimated from the hemoglobin (Hb) level. One of the simplest methods of measuring Hb, based on its conversion to hematin hydrochloride, is applicable for liquid blood but leads to reduced extraction of hematin in case of DBS. **Objective of the study.** Creation of an optimized method, which will ensure the complete extraction of hematin from DBS and will allow the determination of other metabolites in the same disc, cut from DBS. **Material and methods.** Lambda 25 spectrophotometer (Perkin Elmer), reagents, and solvents (Sigma-Aldrich). Model samples with different Hct values were prepared from donated blood. DBS discs, intact or after extraction of amino acids with methanol-water (2:1) or 3% perchloric acid, were treated with formic acid (proposed method) or 0.02 M hydrochloric acid (reference method) with stirring for 60 min. Hematin was measured in extracts by optical absorbance at 520 nm. **Results.** When using formic acid, the completeness of hematin extraction reached values of  $92.9 \pm 1.0\%$  from intact DBS,  $97.9 \pm 0.3\%$  after extraction with aqueous methanol and  $96.5 \pm 0.5\%$  after extraction with perchloric acid. When applying the reference method, these values were respectively  $76.1 \pm 0.8\%$ ,  $74.4 \pm 1.4\%$  and  $49.2 \pm 2.1\%$ . The analytical response for the proposed method is linear in the Hct range from 0.19 to 0.65. **Conclusions.** A simple method was developed, which allows the certain estimation of the Hct level in DBS, including after the extraction of other analytical metabolites. **Keywords:** hematocrit, dried blood spots, spectrophotometry.

\* Studiu realizat cu suportul proiectului 20.80009.8007.22 „Medicina genomică și cercetarea metabolomică în serviciul profilaxiei bolilor genetice pentru generații sănătoase în Republica Moldova” din cadrul Programului de Stat (2020-2023), conducător de proiect: Natalia Ușurelu, dr. în med., conf. cercet., autoritatea contractantă: Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare.