

## ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫЙ ГЕМОГЛОБИН (GNB 100)

Ном. номер 10003170

Хранить при  
(+2 до +25)°C

Набор реактивов для приготовления 100 мл рабочих растворов для определения гликогемоглобина в крови.

### Принцип метода

Стабильная форма гликогемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) содержит 1-дезоксигемоглобин (N-валил) фруктозу, которая дегидратируется фосфорной кислотой с образованием цветного комплекса, имеющего абсорбционный максимум при 443 нм. Определению не мешает ни лабильная форма гликогемоглобина, ни фетальный гемоглобин.

### Литература

Gabbay, K. H. a spol.: Diabetes 28, 337 (1979)  
Chromý, V., Konečná, H., Jedličková, R., Horní, J., Kamarýt, J.: Biochem. clin. bohemoslov. 15, 327 (1986)

### Реактивы

- 1 Трихлоруксусная кислота (50мл)  
раствор 2,45 моль/л
- 2 Тиобарбитуровая кислота (1 доза)  
2,5 ммоль/1 доза
- 3 Стандарт фруктозы (20 мл)  
раствор 500 мкмоль/л

### Референтные величины

aK - HbA<sub>1c</sub>, вц-к = (3,5–7,0) мкмоль фруктозы/г Hb  
Приведенный диапазон референтных значений является ориентировочным. Рекомендуется каждой лаборатории вычислять свои диапазоны нормальных величин.

### Воспроизводимость

Около ±6 %

### Вспомогательные реактивы

Фосфорная кислота 85%-ная, ч.д.а. или ч.  
Физиологический раствор хлористого натрия  
Приготавливают растворением 0,9 г хлорида натрия в 100 мл дистиллированной воды.  
Диагностические наборы Био-ЛА-Тест® ГЕМОГЛОБИН,  
Ном. номер 10003194,  
Био-ЛА-Тест® КОМПЛЕКСОНАТ КАЛИЯ, Ном. номер 10003159.

### Приготовление рабочих растворов

#### Раствор тиобарбитуровой кислоты (ТВА)

Содержимое флакона с Реактивом 2 растворяют в 50 мл дист. воды.  
Устойчивость: мин 1 месяц при (+15 до +25)°C в темном месте.

#### Калибровочные растворы

Разбавлением Реактива 3 дист. водой приготавливают калибровочные растворы фруктозы концентрации 100–400 мкмоль/л.  
Устойчивость: мин 1 месяц при (+2 до +8)°C в темном месте.

### Проведение анализа

#### Приготовление гемолизата

Кровь отбирают в комплексонат калия, 1 мл несвертываемой крови центрифугируют (примерно 10 мин при 1000 g), плазму сливают или отсасывают пипеткой Пастера. К эритроцитам добавляют 3 мл физиологического раствора, смесь осторожно перемешивают стеклянной палочкой и центрифугируют. После отсоса надосадочной жидкости к осадку эритроцитов добавляют 3 мл дист. воды, смесь интенсивно встряхивают, оставляют стоять 10 мин и центрифугируют. Для дальнейшей работы используют надосадочную жидкость (гемолизат).

### Определение общего гемоглобина

Длина волны (540–546) нм  
Кювета 1 см  
Температура (+15 до +25)°C  
Рабочий раствор (приготовленный из набора Био-ЛА-Тест® ГЕМОГЛОБИН) смешивают в соотношении 50+1 с гемолизатом и оставляют стоять 10 мин.  
Измеряют оптическую плотность при 546 нм против трансформационного раствора (A<sub>546</sub>). Содержание общего гемоглобина в гемолизате вычисляют по формуле:

$$Hb (г/л) = A_{546} \cdot \frac{367,7}{4,92}$$

### Определение гликогемоглобина

Длина волны (430–450) нм  
Кювета 1 см  
Температура в водной бане (37 ± 0,1)°C, температура в глицериновой бане (100 ± 1)°C с перемешиванием обеспечивающим гомогенное температурное поле.  
Пробирки помещают так, чтобы уровень глицерина примерно на 1 см превышала уровень раствора в пробирках.  
Реактив 1 перед употреблением охлаждают до (+2 до +8)°C.

В пробирку отмеряют (мл)	Проба	Контр. раствор 1	Контр. раствор 2	Стандарты
Гемолизат	1,50	1,50	–	–
Фосфатная кислота 85%-ная Калибровочный раствор	0,25	0,25	0,25	0,25
Дист. вода	–	–	1,50	1,50
Перемешивают встряхиванием, пробирки закрывают резиновыми пробирками для антибиотиков с вколотой инъекционной иглой и нагревают 30 мин на глицериновой бане при (100 ± 1)°C. После 10 мин нагревания инъекционные иглы из пробирок вынимают. По окончании дегидратации пробирку охлаждают в проточной воде или на ледяной бане в течение 10 минут.				
Реактив 1	0,50	0,50	0,50	0,50
Содержимое пробирок встряхивают и центрифугируют в течение 20 мин при наличии помутнения центрифугирование следует подлить. В сухие пробирки отмеряют пипеткой.				
Надосадочная жидкость	1,00	1,00	1,00	1,00
Раствор ТВА	0,50	–	0,50	0,50
Дист. вода	–	0,50	–	–
Перемешивают встряхиванием и инкубируют точно 40 мин при 37°С на водяной бане. Измеряют оптическую плотность пробы (A <sub>1</sub> ), контрольного раствора 1 (A <sub>2</sub> ), контрольного раствора 2 (A <sub>3</sub> ) и стандарты против воды.				

### Расчет

По зависимости оптических плотностей стандартов от концентрации калибровочных растворов определяют угловой коэффициент прямой sm (литр/мкмоль).

Содержание гликогемоглобина рассчитывают по формуле:

$$aK \text{ HbA}_{1c} (\text{мкмоль фруктозы/г Hb}) = \frac{A_1 - (A_2 + A_3)}{Hb \cdot sm}$$

### Примечания

Контрольные растворы 1 и 2 готовят по одному для всей серии анализируемых проб. Для контрольного раствора 1 можно использовать любой гемолизат или их смесь.  
Калибровочный график следует проверять при анализе новой серии проб.

### Меры предосторожности

Набор реагентов предназначен для in vitro диагностики профессионально обученным лаборантом.  
Реактив 1 содержит трихлоруксусную кислоту (40%) – едкое вещество.  
Реактив 2 содержит вторичный фосфат натрия (52%), который раздражающим веществом.  
При работе необходимо соблюдать правила личной гигиены, запрещается есть, пить и курить, надо употреблять личные предохранительные средства.

### Первая помощь

При случайном приеме внутрь следует выпить 0,5 л воды. При попадании в глаза их следует промыть проточной водой. При попадании на кожу ее следует отмыть теплой водой с мылом. Во всех случаях серьезного повреждения здоровья должна быть оказана медицинская помощь.

### Ликвидация мусора

Все тестированные пробы считают материалом, который может быть инфицирован, и совместно с возможными остатками реактивов подлежит уничтожению в соответствии с утвержденными внутрибольничными правилами.  
Бумажную упаковку сдайте в макулатуру, выполосканую заводскую тару в сортированный мусор.

Дата проведения последнего контроля: 28. 1. 2011