

糖化血红蛋白 (GHb) 测试盒

(货号: BC109 15 管/14 样)

一、测定原理:

血红蛋白中具有酮胺键的糖化血红蛋白在酸性环境中加热,使己糖部分脱水,生成5-羟甲基糠醛(5-HMF)化合物,后者可与TBA反应呈黄色,然后进行比色定量。

二、试剂组成:(试剂盒有效期3个月)

试剂一: 液体 20mL×1 瓶, 室温保存。

试剂二: 蛋白沉淀剂 20mL×1 瓶, 室温保存。

试剂三: 显色剂 10mL×1 瓶, 室温避光保存。

试剂四: 氰化高铁血红蛋白测试液 40mL×1 瓶, 避光保存。

三、操作过程:

1、红细胞洗涤:

取 EDTA 或肝素抗凝全血 2~4mL 置于带刻度离心管中,以 500~1000 转/分,离心 5~10 分钟,弃上清留沉淀的红细胞,然后用生理盐水按上述方法洗涤 2~3 次。(若来不及洗涤抗凝全血可放置 48 小时)

2、溶血液的制备:

①、取压积红细胞 1mL 加冷双蒸水 1.5mL,用手激烈震荡数分钟,或旋涡混匀器充分混匀 1 分钟制得溶血液,此溶血液-20℃保存,可放置 70 天。

②、溶血液的血红蛋白(Hb)浓度测定方法如下:

取溶血液 10μL 加试剂四 2.5mL,混匀,室温放置 10 分钟,用分光光度计在 540nm 处,1cm 光径水调零测各管吸光度;将所得吸光度×0.3677 即为 Hb 的含量 g/mL。

3、酸化:

取玻璃试管,标明“0”即空白管,“U”即测定管,在“0”管中加入双蒸水 2mL,“U”管中加入溶血液 2mL,然后各管均加入试剂一 1mL 酸化。加试剂一要缓慢,边滴边摇。

4、水解:

将上述试管加橡皮塞或塑料薄膜,(用针戳一小孔再用橡皮筋扎紧,将玻璃管口封住)。置沸水浴中或干燥箱 100℃加热水解 1 小时。

5、显色:

①、各管加试剂二(蛋白沉淀剂) 1mL,(遇天冷时,水解液可能会凝固,可再加温

使其溶解。) 加试剂二要缓慢, 边滴边摇边加入。加完后在旋涡混匀器上混匀, 再 3000 ~ 3500 转/分, 离心 10 分钟。

②、取上清 2mL, 各加试剂三 (显色剂) 0.5mL, 40℃水浴保温 30 分钟。

③、冷却后, 双蒸水调零、443nm、1cm 光径, 测各管的吸光度。

四、计算公式及举例:

1、计算公式:

糖化血红蛋白的结果以每 10 克血红蛋白的吸光度表示:

$$\begin{aligned} \text{每10克血红蛋白吸光度} &= \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{2\text{ml 溶血液中血红蛋白克数}} \times \text{稀释倍数} \times 10\text{g} \\ &= \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{血红蛋白克数} / \text{毫升溶血液}} \times 10 \end{aligned}$$

2、计算举例:

取压积红细胞 1mL, 加水 1.5mL, 溶血, 测得 Hb 为 0.108g/mL, 测 GHb 得测定管吸光度为 0.336, 空白管吸光度为 0.006, 计算如下:

$$\begin{aligned} \text{每10克血红蛋白吸光度} &= \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{2\text{ml 溶血液中血红蛋白克数}} \times \text{稀释倍数} \times 10\text{g} \\ &= \frac{0.336 - 0.006}{2 \times 0.108} \times 2 \times 10 = 30.6 \end{aligned}$$

五、参考值:

正常时每 10 克血红蛋白中的糖化血红蛋白的吸光度值范围为 13.3 ~ 23.5。

六、附注:

- 1、本法精密度较好, 平均 CV 值为 4.2%。
- 2、溶血液如果未能及时测定, 可贮存于 -20℃ 的条件下达 70 天, 不影响结果。
- 3、本法操作简便不需特殊仪器。
- 4、计算结果换算公式:

IFCC-HbA1c (%) = 每 10 克血红蛋白的吸光度 × 0.001 + 0.0154,

IFCC-HbA1c (mmol/mol) = 13 × IFCC-HbA1c (%) × 100 - 7.4,

DCCT-HbA1c (%) = (IFCC-HbA1c (mmol/mol)) ÷ 10.929 + 2.15) ÷ 100。