

糖化血红蛋白（GHb）测试盒说明书

（货号：A056-1-1 15 管/14 样）

免责声明：测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验，
否则由此导致的后果用户自行承担!

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 6 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：血红蛋白测试工作液 40mL×1 瓶，避光保存。

三、所需仪器及试剂：

可见分光光度计及 1cm 光径比色皿，涡旋混匀器，离心机，沸水浴锅或烘箱（干燥箱），蒸馏水，生理盐水，针（或带针头的物品）。

四、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 4℃放置 48 小时）

2、溶血液的制备：

- ①、取压积红细胞 1mL 加冷蒸馏水 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，此溶血液置-20℃可保存 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 光径蒸馏水调零测其吸光度值；将所得吸光度值×0.3677 即为溶血液 Hb 含量(g/mL)。

3、GHb 操作步骤：

	空白管	测定管
蒸馏水(mL)	2	
溶血液(mL)		2
试剂一(mL)	1	1
混匀(加试剂一时要缓慢，边滴边摇)，试管加橡皮塞或塑料薄膜(或是耐酸的离心管盖好盖子)，用针戳一小孔再用橡皮筋扎紧，将管口封住。置沸水浴或干燥箱中 100℃加热水解 1 小时，水解完取出用常温水冷却至室温。（遇天冷时，水解液可能会凝固，可再加温使其溶解）		
试剂二(mL)	1	1
混匀，3000~3500 转/分，离心 10 分钟，取上清 2mL 加试剂三显色		
上清(mL)	2	2
试剂三(mL)	0.5	0.5
混匀，40℃水浴 30 分钟。取出冷却后，蒸馏水调零、443nm 波长、1cm 光径，分光光度计测各管吸光度值 A		

注：加试剂二要缓慢，边滴边摇边加入。

五、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：

$$\text{GHb 含量} \left(\frac{A}{10\text{gHb}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{C_{\text{Hb}} \times V_{\text{样}}} \times N \times 10$$

A 为吸光度；

C_{Hb} 为溶血液的血红蛋白浓度, g/mL;

V_样 为 GHb 操作时的加入量,2mL;

N 为 GHb 操作时试剂一、二对溶血液的稀释倍数，2；

10 指 10g 血红蛋白。

六、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。

七、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、若是血液量较少，可按比例减少整个过程的试剂及样本用量。
- 4、计算结果换算公式：

$$\text{IFCC-HbAlc}(\%) = \text{每 10 克血红蛋白的吸光度} \times 0.001 + 0.0154,$$

$$\text{IFCC-HbAlc}(\text{mmol/mol}) = 13 \times \text{IFCC-HbAlc}(\%) \times 100 - 7.4,$$

$$\text{DCCT-HbAlc}(\%) = (\text{IFCC-HbAlc}(\text{mmol/mol})) \div 10.929 + 2.15 \div 100.$$