

## DOLOCANJE KONCENTRACIJE GLUKOZE V SERUMU Z GLUKOZA-OKSIDAZNO PAP METODO

### 1. PRINCIP:

### 2. POSTOPEK:

V 10mL epruvete pipetiramo v  $\mu\text{L}$ :

	<b>Sl</b>	<b>St</b>	<b>Vz</b>	<b>K</b>
<b>demineral. voda</b>	10	-	-	-
<b>standardna razt. glukoze</b>	-	10	-	-
<b>vzorec (serum)</b>	-	-	10	-
<b>kontrolni vzorec</b>	-	-	-	10
<b>delovni reagent</b>	1000	1000	1000	1000

Dobro premešamo in pustimo stati 20 min pri temperaturi 20-25°C. Po končani inkubaciji merimo absorbanco pri 505 nm. Nastalo obarvanje je stabilno 30min.

### 3. MATERIAL IN OPREMA

*Reagenti:* Delovni reagent je raztopina 4-aminoantipirina, GOD, POD in fenola v fosfatnem pufru s pH 7,4.

*Standardna raztopina glukoze:*

*Kontrolni material:*

*Spektrofotometer:*

*Laboratorijski pribor:*

#### 4. MERITVE:

Pogoji merjenja:

temperatura:

valovna dolžina:

Meritve absorbanc:

Sl	St	Vz	K

Izacun:

$$C_{vz} = ((A_{vz} - A_{sl}) / (A_{st} - A_{sl})) \times C_{st}$$

Rezultati:

Sl	St	Vz	K

Referentne vrednosti:

**S, P: 3,6 – 6,1 mmol/L**

# DOLOCANJE GLIKIRANEGA HEMOGLOBINA HbA1C S KROMATOGRFSKO METODO

## 1. PRINCIP:

## 2. POSTOPEK:

### *a) Priprava hemolizata in odstranjevanje labilne frakcije*

V 10 mL epruveto pipetiramo 50  $\mu$ L polne venske krvi in dodamo 200  $\mu$ L reagenta 1. Dobro premešamo in pustimo 10 - 15 min na sobni temperaturi.

### *b) Priprava kolone*

Najprej odstranimo gornji, nato pa še spodnji pokrovček kolone. S stekleno palčko potisnemo disk na smolo (vendar ne prevec!) in pocakamo, da odtece odvecni pufer, ki ga zbiramo v epruveto.

### *c) Locevanje in merjenje HbA1c*

Na kolono pipetiramo:

hemolizat vzorca .....50  $\mu$ L  
reagent 2 .....200  $\mu$ L

Pustimo, da tekocina stece cez kolono ter na kolono pipetiramo še:  
reagent 2.....2,0 mL

Pustimo, da tekocina odtece. Podstavimo ново epruveto in zacnemo z eluiranjem HbA1c tako, da na kolono dodamo:

reagent 3 .....4,0 mL (2  $\times$  po 2 mL)

Po koncanem eluiranju vsebino epruvete dobro premešamo in izmerimo absorbanco pri 415nm (AHbA1c).

### *d) Merjenje celokupnega hemoglobina v hemolizatu*

V 10 mL epruvete pipetiramo:

reagent 3 .....6,0 mL  
hemolizat .....25  $\mu$ L

Dobro premešamo in izmerimo absorbanco pri 415nm proti destilirani vodi (Acel).

### 3. MATERIAL IN OPREMA

*Reagenti:*

Reagent 1: kalijev biftalat 50 mmol/L, detergent, pH=5,0

Reagent 2: fosfatni pufer 48 mmol/L, pH=6,5, Na-azid 1g/L

Reagent 3: fosfatni pufer 72 mmol/L, pH=6,4, Na-azid 1g/L

*Mikrokolone* vsebujejo določeno količino izmenjevalca v fosfatnem pufru

*Spektrofotometer:*

*Laboratorijski pribor:*

### 4. MERITVE:

Pogoji merjenja:

temperatura:

valovna dolžina:

Meritve absorbanč:

HbA1c	celokupni Hb

Izračun:  $\%HbA1c = (AHbA1c / 3 \times Acel) \times 100$

Rezultat:

Referentne vrednosti: polna venska kri: 4,2 - 6,2%

## **KOMENTAR REZULTATOV**

Skupaj komentirajte rezultate določanja glukoze in glikiranega Hb!

---

**Pregledal-a:**

**Datum:**

**Pripombe:**