

УДК 616.379-008.64-08

ПОВЫШЕНИЕ ТОЧНОСТИ МЕТОДА БОРОНАТНОЙ АФФИННОСТИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГЛИКИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ

О.О. ОСТАПУК¹, В.В. ЖИЛИНСКИЙ², В.С. ФЕДОСЕНКО³, Г.Г. ГОРОХ³

¹РУП «Брестский центр метрологии и сертификации» (Брест, Республика Беларусь)

²УО «Белорусский государственный технологический университет» (Минск, Республика Беларусь)

³УО «Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники» (Минск, Республика Беларусь)

Аннотация. В работе описана методика определения гликированного гемоглобина методом боронатной аффинности с использованием антикоагулянтов на основе ЭДТА и гепарина, которые способствуют повышению точности определения гликированного гемоглобина в крови. Определено процентное содержание гликированного гемоглобина при тестировании образцов крови перемешанных с антикоагулянтом ЭДТА и смешанным антикоагулянтом. Точность определения гликированного гемоглобина при использовании в качестве антикоагулянта смеси ЭДТА и гепарина повысилась на 0,3% по сравнению с методом, в котором использовался только ЭДТА.

Ключевые слова: гликированный гемоглобин, боронатная аффинность, антикоагулянты, ЭДТА, кровь, гепарин.

THE ACCURACY IMPROVING OF THE BORONATE AFFINITY METHOD IN THE GLYCATED HEMOGLOBIN DETERMINATION IN BLOOD

A.A. ASTAPUK¹, V.V. ZHYLINSKI², V.S. FEDOSENKO³, G.G. GOROKH⁴

¹Brest Center for Metrology and Certification (Brest, Republic of Belarus)

²Belarusian State Technological University (Minsk, Republic of Belarus)

³Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics" (Minsk, Republic of Belarus)

Annotation. The paper describes the technique for determining glycated hemoglobin by the boronate affinity method using anticoagulants based on EDTA and heparin, which improve the accuracy of determining glycated hemoglobin in blood. The percentage of glycated hemoglobin was determined when testing blood samples mixed with EDTA anticoagulant and mixed anticoagulant. The accuracy of determining glycated hemoglobin when using a mixture of EDTA and heparin as an anticoagulant increased by 0.3% compared to the method that used only EDTA.

Keywords: glycated hemoglobin, boronate affinity, anticoagulants, EDTA, blood, heparin.

Введение

С учетом распространенности сахарного диабета, возможности раннего и быстрого развития его осложнений, большого количества недиагностированных случаев и неутешительных прогнозов ВОЗ относительно перспектив распространения сахарного диабета в мире важна своевременная и точная диагностика нарушений углеводного обмена [1].

Гликированный гемоглобин – показатель, который при использовании стандартизованных методик дает интегрированное представление об уровне гликемии на протяжении длительного промежутка времени и помогает своевременно выявить нарушения углеводного обмена [1,2]. При использовании гликированного гемоглобина в качестве диагностического критерия нарушений углеводного обмена или степени компенсации сахарного диабета важным является правильный подход к выбору метода определения данного показателя с учетом его аналитической надежности. Нормальным считается уровень гликированного гемоглобина до 5,7% [2]. Лучшим считается показатель 5,5% [2].

Широкое использование технически простого метода определения гликированного гемоглобина иммуноферментным способом в поликлиниках и больницах позволяет организовать быстрый контроль, но точность определения уровня гликированного гемоглобина значительно уступает высокоэффективной жидкостной хроматографии, особенно при использовании охлаждённых компонентов для анализа. В связи с этим поиск методик улучшения иммуноферментного метода анализа гликированного гемоглобина остается важной практической задачей.

Методика проведения эксперимента

Для исследования использовались образцы цельной венозной крови с антикоагулянтом ЭДТА (этилендиаминтетраацетат натрия) и одновременным использованием в качестве антикоагулянта смеси ЭДТА и гепарина. Данные образцы крови хранились в течение недели при температуре 4°C.

Определение гликированного гемоглобина проводилось при комнатной температуре. Перед проведением тестирования кровь с антикоагулянтом была тщательно перемешана. С помощью пипетки нанесли образцы крови на предметное стекло, затем при помощи капилляра, расположенного на картридже с реагентом, отобрали кровь и поместили на картридж в анализатор [1].

Для определения гликированного гемоглобина в образце крови использовали анализатор CLOVER A1c. Анализатор представляет собой устройство для *in vitro* диагностики гемоглобина A1c при помощи признанного метода боронатной аффинности. Анализатор позволяет использовать антикоагулянты на основе ЭДТА (этилендиаминтетраацетат натрия), гепарин и др. для улучшения точности анализа крови на гликированный гемоглобин.

Система CLOVER A1c представляет собой полностью автоматическое исследование методом боронатной аффинности для определения процентного содержания гемоглобина A1c (HbA1c%) в цельной крови. Тестовый картридж включает в себя картридж и блок с реагентом. Блок с реагентом содержит реактив и промывочный раствор. Реактивы содержат вещества, которые лизируют эритроциты и особым способом связывают гемоглобин, так же как и боронатная смола, которая связывает цис-диолы гликированного гемоглобина.

Образец крови размером в 4 мкл отбирается при помощи капилляра в блоке с реагентом. Кровь быстро лизируется, освобождая гемоглобин, а боронатная смола связывает гликированный гемоглобин [1].

Картридж вставляется в анализатор. Смесь образца крови поворачивают к измерительной зоне картриджа, где при помощи отражательной способности фотодатчика LED и PD измеряется общее количество гемоглобина в образце крови.

Затем картридж поворачивается таким образом, чтобы промывочный раствор смыл негликозилированный гемоглобин с образца крови. Таким образом, количество гликозилированного гемоглобина, может быть измерено фотометрически. Система CLOVER A1c вычисляет соотношение гликозилированного гемоглобина по отношению к общему количеству гемоглобина в образце крови [1].

Для контроля правильности полученных результатов пробу крови, не смешенную с антикоагулянтом, проанализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением жидкостного хроматографа Agilent 1200.

Результаты и их обсуждение

В результате тестирования образцов крови с антикоагулянтом ЭДТА и со смешенным антикоагулянтом установлено, что среднее содержание гликированного гемоглобина составило 5,2 и 5,5 % соответственно (Таблица 1). Для сравнения точности результатов тестирования образцов крови методом боронатной аффинности, параллельно провели испытания образцов крови, не смешанных с антикоагулянтами, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе (Таблица 1).

Таблица 1. Содержание гликированного гемоглобина, определенное методом боронатной аффинности с различными антикоагулянтами и методом жидкостной хроматографии

| Номер образца крови | Содержание гликированного гемоглобина при использовании ЭДТА, % | Содержание гликированного гемоглобина при использовании смеси ЭДТА и гепарина, % | Содержание гликированного гемоглобина, полученное методом жидкостной хроматографии, % |
|---------------------|---|--|---|
| 1 | 5,2 ± 0,1 | 5,5 ± 0,1 | 5,62 ± 0,01 |
| 2 | 5,2 ± 0,1 | 5,5 ± 0,1 | 5,63 ± 0,01 |
| 3 | 5,3 ± 0,1 | 5,6 ± 0,1 | 5,62 ± 0,01 |
| 4 | 5,1 ± 0,1 | 5,4 ± 0,1 | 5,60 ± 0,01 |
| 5 | 5,2 ± 0,1 | 5,5 ± 0,1 | 5,62 ± 0,01 |
| 6 | 5,2 ± 0,1 | 5,5 ± 0,1 | 5,63 ± 0,01 |
| 7 | 5,2 ± 0,1 | 5,5 ± 0,1 | 5,62 ± 0,01 |
| 8 | 5,3 ± 0,1 | 5,6 ± 0,1 | 5,63 ± 0,01 |
| 9 | 5,2 ± 0,1 | 5,6 ± 0,1 | 5,61 ± 0,01 |
| 10 | 5,3 ± 0,1 | 5,6 ± 0,1 | 5,61 ± 0,01 |

На основании результатов тестирования крови на гликированный гемоглобин можно сделать вывод, что при использовании в качестве антикоагулянта смеси антикоагулянтов ЭДТА и гепарина, были получены результаты, которые близки по своим значениям к результатам, полученным при использовании метода высокoeffективной жидкостной хроматографии. В данном случае точность определения повысилась примерно на 0,3% в сравнении с методом, в котором использовался только ЭДТА.

Заключение

В данной работе были проведены тестирования образцов крови, смешанных с антикоагулянтом ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) и смесью коагулянтов ЭДТА и гепарина, методом боронатной аффинности. По результатам данного тестирования видно, что образцы крови, смешанные только с антикоагулянтом ЭДТА показали более низкое содержание гликированного гемоглобина, чем образцы, полученные со смесью антикоагулянтов ЭДТА и гепарина.

Сравнив результаты, полученные методом боронатной аффинности и результаты, полученные методом жидкостной хроматографии, сделали вывод, что при смешивании крови со смесью антикоагулянтов ЭДТА и гепарина точность определения повысилась гликированного гемоглобина на 0,3 %.

Список литературы

1. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. – 10-й выпуск – М.; 2021- 222 с. DOI: 10.14341/DM12802.
2. Вершинина М.Г., Стериополо Н.А., Исаева О.М. Выбор аналитической системы для определения гликированного гемоглобина. Лабораторная служба. – 2018. Т.7, №4. С. 58-59. DOI:10.17116/labs2018704158.