

研究[J]. 男科学报, 1999, 5(1): 29-31.

[6] 徐宁. 泌尿生殖道分泌物支原体培养及药敏结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(4): 505-506.

[7] 高鹏, 张咏梅, 李顺安, 等. 某地区 2 774 例泌尿生殖道支原体培养及药敏检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 205-206.

[8] 吴蓉, 邱燕, 穆海. 泌尿系感染病原体分布及耐药性监测[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 271-272.

• 检验技术与方法 •

[9] 洪志强, 方梅, 陆巧荣. 实时荧光定量 PCR 技术在结核分枝杆菌研究中的应用[J]. 现代预防医学, 2010, 37(27): 346-347.

[10] 陆静, 梁占光, 韩字研. 荧光定量 PCR 对生殖道沙眼衣原体及解脲支原体检测结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(10): 1311-1312.

(收稿日期: 2012-01-30)

高效液相色谱法检测全血糖化血红蛋白的稳定性分析及其应用价值

聂庆东¹, 刘君廷², 祁瑞环¹

(1. 清华大学医院检验科, 北京 100084; 2. 北京市丰台医院检验科 100070)

摘要:目的 初步分析高效液相色谱法(HPLC)检测全血糖化血红蛋白的稳定性并讨论其应用价值。方法 临床随机采集 3 个 HbA1c 水平的乙二胺四乙酸(EDTA-K₂)抗凝无变异血红蛋白的全血标本 90 例, 应用 HPLC 对全血标本在不同存放时间(即时、30、50、60、70 d)进行 HbA1c 检测。结果 全血糖化血红蛋白 60 d 内检测的结果均在可接受范围内, 判定为稳定。结论 应用离子交换高效液相色谱法检测在 2~8 ℃条件下保存的 EDTA-K₂ 抗凝全血, 对糖化血红蛋白稳定性研究有着重要的临床应用价值。

关键词:糖尿病; 糖化血红蛋白; 高效液相色谱; 稳定性

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 08. 035 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)08-0967-02

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种常见的内分泌代谢障碍性疾病。人口老龄化和居民生活方式的改变使得我国的糖尿病患病率呈明显的上升趋势^[1]。糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, GHb)是目前国际上公认的检测 DM 患者血糖控制情况的金标准。糖化血红蛋白 A1(HbA1c)是红细胞中血红蛋白与葡萄糖缓慢、持续且不可逆进行非酶促蛋白糖化反应的产物^[2]。国际标准推荐 HbA1c≥6. 5%作为诊断非妊娠相关的 DM^[3-4]。但各地 HbA1c 检测方法标准化的程度及当地对普遍开展 HbA1c 检测的经济承受能力等问题, 使 HbA1c 筛查和诊断 DM 存在许多问题^[5]。实验室由于人员、设备、效益等因素的影响, 有时不能及时检测 HbA1c, 这就涉及样本的保存问题^[6]。国外有文献报道抗凝全血样本在-70 ℃或更低的温度可以稳定 1 年以上, 但对于 2~8 ℃保存标本稳定性的探讨却各不相同^[7-8]。现分析全血标本保存时间对离子交换高效液相色谱法(IE-HPLC)检测 HbA1c 的影响, 从而讨论其在临床实际应用中的价值。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 日本 TOSOH 公司 HLC-723 G7 全自动糖化血红蛋白分析仪。配套试剂由日本 TOSOH 公司提供, 批号: 第 1 液 G7-108P; 第 2 液 G7-206P; 第 3 液 G7-302P; 溶血洗净液 HW-13P。质控品由日本 TOSOH 公司提供, 水平 1、2 批号: 090848。耗材: 真空采血管由健峰生物技术有限公司提供。

1.2 方法 用 IE-HPLC 法检测变异 Hb、HbF 样本中的 HbA1c, 结果可能受干扰^[9]。应从该院当日体检采集的 EDTA-K₂ 抗凝全血标本中选取无变异血红蛋白的标本 90 例, 2 h 内检测 HbA1c 水平为基准值, 相对均匀地选择 HbA1c 浓度为小于 6. 5%、7%~8%和大于 10%样本分别混匀后分装, 将得到的 3 份低、中、高值区间样本保存于 2~8 ℃冰箱, 分别于 30、50、60、70 d 复融、稀释、检测。

1.3 稳定性评价 本实验参考美国糖化血红蛋白标准化计划^[10](National Glycohaemoglobin Standardization Program,

NGSP)并结合实验室自身条件严格进行全血样本的稳定性评价。HLC-723 G7 仪器即时检测 90 例 HbA1c 结果并计算各区间样本的 $\bar{x}$ 、s 和 CV%, 并以此为基准结果, 其他保存时间的结果与 $\bar{x} \pm 3s$ 比较进行稳定性评价, 在 $\bar{x} \pm 3s$ 范围内为可接受结果, 即判为“稳定”, 超出 $\bar{x} \pm 3s$ 范围即判为“不稳定”。判为“不稳定”所对应检测时间的前一时间点为保存时间即是稳定时间。

2 结果

2.1 按照 CLSI 的 EP5-A2 文件的要求^[11], 将 TOSOH 公司水平 1、2 质控品混合均匀分装, 每天做两批实验(上午一批、下午一批, 时间间隔大于 2 h), 实验样本随机插入常规标本中做双份测定, 连续测定 20 个工作日, 结果显示高、低两水平质控品的总精密度均小于 2%, 说明 HLC-723 G7 全自动糖化血红蛋白分析仪重复性良好。

2.2 即时检测 HbA1c 结果, 临床随机采集 3 个 HbA1c 水平的乙二胺四乙酸(EDTA-K₂)抗凝无变异血红蛋白的全血标本 90 例, 测定数据采用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析, 可接受范围为 $\bar{x} \pm 3s$ 区间。见表 1。

表 1 即时 HbA1c 检测结果比较分析					
组别	例数(n)	$\bar{x}$ (%)	s(%)	CV(%)	可接受范围(%)
低值组	45	5.26	0.05	0.95	5.11~5.41
中值组	25	7.59	0.06	0.79	7.41~7.77
高值组	20	10.76	0.06	0.56	10.58~10.94

2.3 不同保存时间 HbA1c 结果, 在 4 ℃保存条件下, 90 例 EDTA-K₂ 抗凝全血分别在 30、50、60、70 d 应用 G7 检测 HbA1c(%), 结果 70 d 低、中、高值均超出可接受范围 $\bar{x} \pm 3s$, 因其前一时间点为 60 d, 判定其可稳定 60 d。见表 2。

表 2 不同保存时间 HbA1c 检测结果比较分析($\bar{x} \pm s$, %)

组别	30 d	50 d	60 d	70 d
低值组	5.28±0.04	5.27±0.03	5.30±0.03	5.33±0.04
中值组	7.57±0.04	7.58±0.03	7.59±0.03	7.62±0.06
高值组	10.74±0.04	10.76±0.04	10.77±0.04	10.81±0.05

3 讨 论

本研究运用的 G7 糖化血红蛋白分析仪采用的是非多孔阳离子交换柱的高压液相层析法(HPLC)是检测 HbA1c 的金标准。利用 EDTA-K₂ 抗凝全血检测 HbA1c 结果在 2~8 ℃条件下可保持 60 d 稳定的实验结论,本组建议临床标本少的社区卫生服务中心可选择收集临床标本,规定时间集中检测,实现节约成本、保养仪器的管理目的;也可选择收集标本外送检测,实现院内抽血、院外协同检验。

现代医学检验对样本的保存时间及复检流程有着明确要求,若临床医师或者患者对检验报告有疑问,检验师按照复查标本处理流程,会在标本的保存期内,核查编号,予以复查。全血糖化血红蛋白的稳定性研究更能为此项服务提供依据。此外,仪器故障或者试剂不足时,需要把样本保存至问题解决,对于减少患者的抽血次数具有实际意义。对于进行 DM 流行病调查的机构在样本的储存、运输过程中要注意 HbA1c 检测的稳定性,才能保证统计结果的准确性。

参考文献

[1] 张普洪,焦淑芳,周蓬,等.北京市 2005 年成年人慢性病相关生活方式和行为习惯研究[J].中华流行病学杂志,2007,28(12):1162-1166.

[2] 周佳桦,吴炯.糖化血红蛋白测定在糖尿病诊断和治疗中的应用

[J]. 检验医学,2010,25(8):583-587.

[3] International Expert Committee. International expert committee report on the role of the Alc assay in the diagnosis of diabete[J]. Diabetes Care,2009,32(16):1327-1334.

[4] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010[J]. Diabetes Care,2010,33(1):11-69.

[5] 纪立农.用糖化血红蛋白诊断糖尿病[J].中国糖尿病杂志,2009,17(8):561-562.

[6] 林振忠,明德松,蒋建家.不同抗凝及保存方式的全血测定 HbA1c 结果分析[J].检验医学,2011,26(2):141-142.

[7] Jones W, Scott J, Leary S, et al. Stability of whole blood at -70 ℃ for measurement of hemoglobin Alc in healthy individuals[J]. Chin Chem,2004,50(8):2460-2461.

[8] Selvin E, Coresh J, Jordahl J, et al. Stability of haemoglobin A1c (HbA1c) measurements from frozen whole blood samples stored for over a decade[J]. Diabetic Medicine,2005,22(11):1726-1730.

[9] 缪怡,徐雪亮,金洁美.变异血红蛋白对两种基于 HPLC 原理的糖化血红蛋白检测系统的影响[J].检验医学,2009,24(4):251-254.

[10] Little RR, Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, et al. The national glycohemoglobin standardization program: A five year progress report[J]. Clin Chem,2001,47(15):1985-1992.

[11] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.

(收稿日期:2012-01-30)

• 检验技术与方法 •

CLIA 法和 RPR 法在手术前梅毒筛查中的比较

刘艳秋¹, 李红林^{2△}

(1. 江苏省淮安市第一人民医院分院检验科 223002;
2. 南京医科大学附属淮安一院检验科, 江苏淮安 223300)

摘 要:目的 比较化学发光分析(CLIA)法和快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)法在术前梅毒筛查中的应用价值。方法 分别用 CLIA 法和 RPR 法检测 1 873 例术前患者的血清标本,并比较梅毒检测结果。结果 CLIA 法检出 69 例阳性,阳性率为 3.69%;RPR 法检出 30 例阳性,阳性率为 1.60%。两者差异有统计学意义($\chi^2=37.025\ 6, P<0.05$)。结论 CLIA 法仪器操作较规范,易批量操作,漏检率低,是较为理想的手术前梅毒筛查方法。

关键词:梅毒; 化学发光法; 快速血浆反应素环状卡片试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.036 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)08-0968-02

近年来,梅毒的患病率逐年上升,呈高发状态^[1]。为严防梅毒螺旋体通过外科手术等途径进行医源性传播,绝大多数医院都已对手术前患者的血液进行常规梅毒抗体筛查。为选择一种操作简便,漏检率低的术前梅毒筛查方法,本组同时应用传统的快速血浆反应素环状卡片试验(rapid plasma reagin test, RPR)和国内近年来新开发的化学发光分析法(chemiluminescence immunoassays, CLIA)对患者的血清进行检测比较,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 该院 2011 年 5~10 月手术患者 1 873 例,其中男 978 例,年龄 4~92 岁,女 895 例,年龄 4~89 岁。手术前用促凝真空管采集静脉血,分离血清备用。

1.2 仪器与试剂 RPR 试剂(上海科华生物工程有限公司,批号:20114401),XK96-6 型梅毒旋转振荡器;化学发光法梅毒抗体诊断试剂(威海威高生物科技有限公司,批号:20010427),山东威高 JR-1 型化学发光免疫分析仪, X-9620 型洗板机。

1.3 方法 用 PRR 法和 CLIA 法同时检测每例标本,所有操作严格按说明书要求进行。

1.4 统计学处理 所有数据均用 Excell 2003 进行统计分析, RPR 法和 CLIA 法的检测结果用阳性率表示,进行四格表配对资料的 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义^[2]。

2 结 果

两种方法检测 1 873 例血清筛查梅毒结果,CLIA 法阳性率为 3.69%(69/1 873),RPR 法阳性率为 1.60%(30/1 873),

△ 通讯作者, E-mail: hayyhl@163. com。