

参考文献

[1] 丁俊. 他克莫司的药理作用及临床应用研究概况[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(17): 1347-1348.  
 [2] 张东东, 乔薇. 检验医学分析前质量控制的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 890-891.  
 [3] 方崇波. 微粒子酶免疫法测定全血中他克莫司浓度应注意的几个问题[J]. 中国药业, 2009, 18(15): 50.  
 [4] 董新华, 尚丽红. 他克莫司血药浓度检测方法比较与差异研究[J]. 临床医药实践, 2010, 19(6A): 430-431.

[5] 李鹏飞, 刘丽宏, 马萍, 等. 高效液相色谱-串联质谱法在他克莫司临床血药浓度监测中的应用[J]. 质谱学报, 2008, 29(3): 137-143.  
 [6] 方崇波. 运用 Excel 建立他克莫司 TDM 室内质控方法[J]. 海峡药学, 2008, 20(3): 69-70.  
 [7] 江桂芬, 周志凌. 他克莫司室内质控失控分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(11): 1126.  
 [8] 蒋艳, 邹素兰, 夏宗玲. 室内质量控制在 EMIT 法监测他克莫司血药浓度中的应用[J]. 中国药房, 2011, 22(25): 2342-2343.

(收稿日期: 2011-12-02)

• 质控与标规 •

## 自制糖化血红蛋白质控物的实验探讨

王树辉, 李贵芳, 凌晓舞  
 (贵州省人民医院检验科, 贵阳 550002)

**摘要:**目的 自制糖化血红蛋白质控物, 用于全自动生化分析仪测定糖化血红蛋白的内部质量控制, 并评价其稳定性。方法 采集混合新鲜健康人全血, 灭活, 加入叠氮钠防腐, 分装, 低温保存。连续 5 个月在奥林巴斯 AU5400 生化分析仪上分析质控品的 HbA1c 的结果及其标准差和 CV。结果 贮存于 -70 °C 自制的糖化血红蛋白的质控品复溶后, 在奥林巴斯 AU5400 全自动生化分析仪上所测得的 HbA1c 值 5 个月均值都很稳定, 每个月的 CV 值都小于 5%, 各个月的检测结果对比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。这 5 个月的总的 HbA1c 值变异低于 5%。结论 自制糖化血红蛋白质控物基本上符合临床使用的要求, 是良好的室内质量监测的质控品。

**关键词:** 血红蛋白 A, 糖基化; 自制质控品; 质量控制

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.15.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)15-1875-02

糖尿病是由多种原因引起的以慢性高血糖为特征的代谢紊乱<sup>[1]</sup>, 传统诊断糖尿病是依据血液中的葡萄糖(简称血糖)浓度。血糖监测只是过程, 其目标是衡量 HbA1c, 它是糖尿病患者血糖水平病情评估的金标准, 在糖尿病患者血糖水平监控的应用已成为一种趋势<sup>[2]</sup>。最近, 国际糖尿病专家委员会报道, 推荐用测定血中糖化血红蛋白(HbA1c)含量来诊断糖尿病<sup>[3]</sup>。糖化血红蛋白是血红蛋白在高血糖的作用下发生缓慢连续的非酶促糖化反应的产物, 其主要形式为 HbA1c<sup>[4]</sup>。目前许多实验室所使用的糖化血红蛋白质控品为进口的质控物, 而自制糖化血红蛋白质控品的研究, 最终研究配制出配方合理、成本低廉、结果稳定的液体生化质控物, 本文通过利用实验室检测后的标本采集新鲜全血, 来制备糖化血红蛋白质控物, 然后保存于 -70 °C 以下, 通过连续 5 个月检测来对其精密度和准确度进行探讨, 现报道如下。

### 1 材料与方 法

1.1 仪器 奥林巴斯 AU5400 生化分析仪。

1.2 试剂 糖化血红蛋白(HbA1c)前处理液由日本积水医疗株式会社生产, 批号: 817REH; 罗氏 HbA1c 试剂由日本积水医疗株式会社生产, 批号: 810RBH, 罗氏试剂附带定标液(Cat. No. 137 318-01)。

### 1.3 方 法

1.3.1 全血质控物的制备 采集混合新鲜健康人全血, 灭活, 用 0.02% 的叠氮钠防腐<sup>[5]</sup>, 按一次使用的量分装 1 mL 离心管, 封口, -70 °C 保存备用<sup>[6]</sup>。每次质控时取出一支经室温平衡 10 min(用时不可反复冻融), 以 1:20 加入 HbA1c 处理液, 充分混匀; 混匀后, 同一天内在奥林巴斯 AU5400 上对自制糖化血红蛋白全血质控物的 HbA1c, 连续测定 20 次, 结果取其平均值并记录结果, 同时计算每个月的均值、标准差和 CV 值,

连续进行 5 个月(2010 年 5~9 月)检测, 以第 1 个月的均值、标准差为靶值进行比较<sup>[7]</sup>。如表 1; 最后将这 5 个月的 HbA1c 质控数据汇集在一起, 计算累积平均值、标准差及 CV。

1.3.2 统计学处理 采用 *t* 检验。

### 2 结 果

2.1 每个月的结果如表 1 所示, 5 个月的 HbA1c 均值都很稳定, 每个月的 CV 值均小于 5%, 各个月的检测结果对比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 1 自制糖化血红蛋白质控品 HbA1c 检测结果

时间(月)	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	CV(%)
5	20	6.17	0.15	2.43
6	20	6.11	0.13	2.13
7	20	6.17	0.12	1.94
8	20	6.19	0.11	1.78
9	20	6.09	0.08	1.31

\*:  $P > 0.05$ , 与第 1 个月检测结果对比, 差异无统计学意义。

2.2 这 5 个月的最后均值、标准差及其 CV 为 6.15、0.24 和 3.9。HbA1c 的变异低于 5%。

### 3 讨 论

室内质量控制是实验室质量保证体系中的重要组成部分, 其目的是为了保证每例患者样本测定结果的稳定性和可靠性。一是精密度高, 即测定结果的重复性好, 实验室每天测定的结果变化很小, 消除或减少随机误差造成的影响; 二是准确度高, 即测定结果正确, 接近真值。主要消除或减少系统误差的影响<sup>[8]</sup>。质控物在临床化学室内质量控制工作中起着重要的作用<sup>[6]</sup>。过去国外的学者主要针对冻干质控物进行研究, 冻干质控物虽有在 40 °C 的条件下储存时间长, 便于运输等优点, 却存在复溶后需尽快使用、需准确加入定量的重蒸水、复溶后的质

控物常存在一定的浊度和价格昂贵等不足之处<sup>[9]</sup>。通过对自制糖化血红蛋白质控品的研究,最终配制出配方合理、成本低廉、结果稳定的液体生化质控物。而全血质控物具有稳定性高,价格便宜,可适用于临床作为糖化血红蛋白的质控参考。目前,糖化血红蛋白作为糖尿病筛查、诊断、血糖控制、疗效评估的有效指标,在临床中已得到广泛使用<sup>[10-13]</sup>。临床实验室常用的测定 GHb 的方法有 30 余种,依据反应原理不同分为 2 类:第一类基于 GHb 与非 GHb 的电荷不同,包括阳离子交换色谱法、电泳法、等电聚焦法等;第二类基于 GHb 的结构特点,包括亲和色谱法、免疫法等。而作为糖化血红蛋白的金标准,需要高精度的全自动生化分析仪,作为常规方法不利于临床开展。而免疫比浊法以上全自动生化分析仪,无血红蛋白分离步骤,干扰因素小,特异性和敏感度高,但作为常规项目需要有良好、稳定的质控品定时监控。而全血质控物具有稳定性高,价格便宜,可适用于临床作为糖化血红蛋白的质控参考。通过连续 5 个月的对自制糖化血红蛋白质控物的结果监测,所测得的 HbA1c 值 5 个月均值都很稳定,每个月的 CV 值都小于 2.5%,各个月的检测结果对比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。该 5 个月的总的 HbA1c 值变异低于 5%。自制糖化血红蛋白质控物基本上符合临床使用的要求,是良好的室内质量监测的质控品。说明该质控物的稳定性好,完全能满足室内质评和室内质控的开展和使用。

#### 参考文献

[1] 陈淑云,采云.糖尿病患者 HbA1c 与 C 肽关系分析[J].国际检验医学杂志,2010,31(1):81.

- [2] 瞿良,王惠莹,朱玉琨,等.糖尿病血红蛋白检测的循证检验医学观点[J].国外医学临床生物化学与检验学分册,2005,26(10):718-721.
- [3] 王金良.测定血中糖化血红蛋白来诊断糖尿病[J].开卷有益·求医问药,2010,128(3):260-262.
- [4] 黎卓华,王希平,李郑,等.利用全血质控物作糖化血红蛋白质控物的探讨[J].检验医学与临床,2007,4(2):91-92.
- [5] J. 萨姆布鲁克, E. F. 弗里奇, T. 曼尼阿蒂斯. 分子克隆 II [M]. 2008:861-862.
- [6] 牟秀萍,王伶,牟华红,等.自制血清蛋白电泳质控品的应用及其监控作用的评价[J].江西医学检验,2004,22(5):423-424.
- [7] 王希平,叶雨燕,李鄂,等.混合血浆制备异常凝血质控物及其稳定性的探讨[J].检验医学与临床,2006,3(5):205.
- [8] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:59-61.
- [9] 段勇,王玉明,赵蕊,等.临床化学检验的液性质控血清的制备研究[J].昆明医学院学报,2003,(2):24-27.
- [10] 刘艳梅.糖化血红蛋白糖尿病中的临床应用[J].国际检验医学杂志,2007,28(11):1035-1037.
- [11] 戴晓灵.糖化血红蛋白在糖尿病诊治中的应用[J].检验医学与临床,2008,5(6):373-374.
- [12] 王笠,李琳,王达,等.糖化血红蛋白的检测和临床应用[J].上海医学检验杂志,2003,18(2):119-121.
- [13] 谭琳琳,任君,史新辉,等.糖尿病患者糖化血红蛋白与空腹血糖结果临床分析[J].重庆医学,2008,37(16):1827.

(收稿日期:2012-01-12)

(上接第 1865 页)

作用效应与辣根过氧化物酶类似<sup>[4]</sup>,催化  $H_2O_2$  生成原生态的氧,氧与四氨基联苯胺(TMB)反应生成可溶性蓝色物质出现显色反应<sup>[5]</sup>。而其他物质与包被物结合,则可以导致抗原物质与包被物结合减少,从而减弱显色反应。(3) Hb 具有过氧化物酶活性<sup>[6]</sup>。总之,溶血标本会对 HBsAg 检测产生非常复杂的影响,随着不同的溶血情况,以上几个因素均有可能占据主导地位,从而导致检测结果出现一定的偏差。本文结果显示,对于一步法试剂,不论标本是阴性弱、阳性还是阳性,溶血标本试验结果 OD 值相对对照标本实验结果 OD 值均不同程度的增加,且随着溶血程度的加重,试验孔 OD 值也逐渐升高,此实验结果证实溶血对一步法试验存在干扰,且在所有情况下,均为正向的影响,导致检测结果偏高<sup>[7]</sup>。对于两步法试剂,在标本是阴性时,只有在标本溶血程度很高时,才会对试验结果产生影响,此结果表明:两步法试剂的特异性较一步法高;在标本是弱阳性时,轻度溶血可导致标本 OD 值降低,这种现象可能是由于红细胞内容物对血浆的稀释及内容物中物质与包被物质非特异性结合导致的,出现此种情况,就提醒作者在在日常检测工作中,一定要注意 Cut off 值附近的标本,一旦发现溶血标本,一定要重新取样进行再检,以防出现漏检;对于阳性标本,溶血标本试验结果 OD 值相对对照标本实验结果 OD 值均出现较大程度的增加,且随着溶血程度的加重,试验孔 OD 值也逐渐升高,

从本实验的结果来看,作者发现:两步法试剂的灵敏度和特异性均较一步法试剂有所提高,其抗溶血干扰的能力较强,但是,作者也同时发现,轻中度溶血时,溶血样本可导致 HB-

sAg 检验结果偏低,这在一定情况下,有可能导致假阴性,给临床诊断带来了误导,因此检验人员应谨慎对待溶血样本。遇到有溶血样本,如属轻、中度溶血,可以用设置灰区的方式来杜绝漏检,对灰区标本重新取样检测,以得到准确结果,对避免漏检情况的发生有重要意义;对重度溶血样本则视为不合格样本,应及时重新取样,以免产生假阳性结果,导致宝贵血液资源的浪费。

#### 参考文献

- [1] 王碧玉,黄芳.溶血对临界阴性 HBsAg 结果的影响及抗溶血因素干扰的研究[J].广西医学,2011,33(9):1174-1175.
- [2] 谭有为,贾夫峰,张峰.无偿献血者溶血标本对检验结果的影响[J].临床输血与检验,2010,12(2):145-146
- [3] 陆仁飞.溶血标本对乙型肝炎病毒表面抗原检测结果的影响[J].检验医学与临床,2008,5(17):1065-1066.
- [4] 周峰,宋忠琴.不同程度的溶血标本和带血球标本对酶联免疫吸附试验一步法检测乙肝病毒血清标志物的影响[J].实用医技杂志,2006,13(22):3966-3967.
- [5] 牛利茹,毕亚丽,李金伟.血标本溶血对检验结果的影响及防范对策[J].临床误诊误治,2005,18(9):691-692.
- [6] 岳献荣,孟毓.酶联免疫吸附试验检测各环节中应注意的问题[J].中国临床研究,2010,23(2):150-151.
- [7] 陈志坚,梁余莉.标本溶血对 ELISA 检测乙肝表面抗原的影响[J].广西医学,2006,28(9):1437-1438.

(收稿日期:2012-01-10)