

• 检验仪器与试剂评价 •

# VARIANT II 糖化血红蛋白分析仪检测 HbA1c 实验条件及影响因素探讨

张 科, 王 曦, 张德太

(华中科技大学同济医学院附属协和医院检验科, 湖北武汉 430022)

**摘要:**目的 探讨标本的存储条件、重度贫血、异常血红蛋白和仪器的维护保养等对 VARIANT II 糖化血红蛋白分析仪 HbA1c 结果的影响进行探讨。**方法** 选取 20 份 EDTA 抗凝血, 按 HbA1c 低、中、高值进行混合, 得到 3 份样本, 分装后分别储存在室温 18~26℃, 2~8℃, -20℃ 左右 3 个温度条件下, 从第 1 天到第 7 天对本标本进行检测; 选取 20 份重度贫血的患者标本分别作直接检测和稀释法测定; 对含 HbS/C/E/CHb/LA1c 的标本进行检测; 观察维护保养不到位对结果的影响。**结果** 在室温下, HbA1c 只能稳定 4 d, 在 2~8℃, -20℃ 左右下可以稳定 7 d; 重度贫血对 HbA1c 的测定是有影响的, 会使测定的结果偏低; 一般的异常血红蛋白对结果无影响; 分离柱和管路系统污染严重, 血红蛋白各种组分的出峰时间会后移。**结论** 标本的存储条件, 重度贫血和仪器的维护保养不当对结果有影响, 而一般的异常血红蛋白对结果无影响。

**关键词:** 血红蛋白 A, 糖基化; 仪器和设备; 血液化学分析

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.043

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2012)24-3033-02

2002 年, 美国糖尿病协会, 已将糖化血红蛋白作为糖尿病血糖控制的“金标准”。将 HbA1c $\geq$ 6.5% 作为糖尿病诊断的新标准, 将其作为非妊娠糖尿病的首选诊断指标, 但前提是检测实验室要参加美国糖化血红蛋白标准化项目认证, HbA1c 的测定方法可追溯到美国糖尿病控制与并发症研究标准<sup>[1]</sup>。上海交通大学附属第六人民医院贾伟平教授和包玉倩教授等进行的一项横断面流行病学调查结果显示, 在社区人群中, HbA1c $\geq$ 6.3% 对 DM 诊断的效率等同于空腹血糖 7.0 mmol/L。所以, HbA1c 测定结果的准确具有重要的意义, 其测定方法的不一致会影响其结果的准确, 也会影响其临床的应用<sup>[2]</sup>。BIO-RAD VARIANT II 采用离子交换高效液相色谱法, 该仪器用户量大, 笔者在使用该仪器的过程中有一些体会, 现报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 仪器与试剂** 美国 BIO-RAD VARIANT II 分析仪及配套试剂; 美国伯乐中、高 2 个水平质控。

### 1.2 方 法

**1.2.1 标本的存储条件对测定结果的影响** 在临床工作中, 经常会遇到标本不能及时检测的情况; 另外, 医疗单位为了防范日后医疗纠纷而将每天的检测标本都保存以备复查。因此, 标本保存时间及保存条件对 HbA1c 检测结果是否有影响引起了大家的广泛关注。

选取 20 份 EDTA 抗凝全血, 标本无变异血红蛋白存在, 按照 HbA1c 低、中、高值的范围 (HbA1c 浓度小于 5.5%, 6.0%~8.0% 和 9.5% 以上) 进行混合, 得到 3 份低、中、高值样本, 每份样本用冻存管分装 42 份, 每管 100  $\mu$ L, 每个水平首先检测 14 份样本, 得到每个水平的均值和标准差, 其余样本分别储存在室温 18~26℃, 2~8℃, -20℃ 左右 3 个温度条件

下, 医学实验室要求标本保存 7 d, 因此在保存的第 1、2、3、4、5、6、7 天对本标本进行复溶、稀释, 每次检测 2 份样本, 每份样本检测 2 次, 取 4 个数据的均值作为结果。

**1.2.2 贫血对测定结果的影响** 选取 20 份重度贫血 (Hb $<$ 60 g/L) 的患者 EDTA 抗凝全血标本, 在 VARIANT II 仪器上检测 HbA1c。

**1.2.3 异常血红蛋白对测定结果的影响** VARIANT II 高分辨率可以检测大部分常见的变异血红蛋白 HbS/C/E, 主要是验证在高浓度的氨甲酰肌基血红蛋白 (CHb) 和 A1c 前体 (LA1c) 存在时可否报告 HbA1c 结果。CHb 与 HbA1c 的等电点相近将导致 CHb 与 HbA1c 峰分离有部分重叠, LA1c 与 HbA1c 分离时间很接近, 但 HPLC 的高分辨率可降低其干扰, 其色谱图可分离 LA1c 和 CHb 的分离峰。

**1.2.4 仪器的状态对测定结果的影响** 分离柱和管路系统污染严重时, 血红蛋白的各种组分的出峰时间会后移, 如 HbA1c 的 m 峰时间约在 54~62 s 之间, 如果出峰时间延长太多, 则仪器可能不能判定各个峰为何种组分, 并可能错误判读, 此时须用 5% 的次氯酸钠清洗管路或更换层析柱, 以保证检验结果的准确。

## 2 结 果

**2.1 标本的存储条件对测定结果的影响** 见表 1, 样本 1 和样本 2 在第 6 天超出了可接受的范围, 而样本 3 在第 5 天就超出了可接受的范围; 而在 2~8℃ 和 -20℃ 下, 在 7 d 的时间内, 3 个样本水平测定结果的 CV 值均能在可接受范围之内, 但是在 2~8℃ 下, 更为稳定。未检测标本和已检测以备复查的标本应放置在 2~8℃ 的冰箱内, 而不能放置于常温下, 以保证检验结果的可靠。

表 1 3 种温度下测定 HbA1c 结果比较

检测温度	份数 (n)	均值 (%)	s (%)	储存时间(%)							可接受范围(%)	CV(%)
				1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d		
室温												
样本 1	14	4.95	0.07	4.95	4.93	4.88	4.86	4.84	4.75	4.71	4.83~5.07	1.41
样本 2	14	6.63	0.07	6.61	6.56	6.56	6.53	6.53	6.45	6.38	6.51~6.75	1.06
样本 3	14	9.95	0.08	9.92	9.89	9.86	9.83	9.80	9.78	9.72	9.81~10.09	0.80

续表 1 3 种温度下测定 HbA1c 结果比较

检测温度	份数 (n)	均值 (%)	s (%)	储存时间(%)							可接受范围(%)	CV(%)
				1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d		
2~8 ℃												
样本 1	14	4.95	0.07	4.96	4.95	4.93	4.91	4.92	4.93	4.92	4.83~5.07	1.41
样本 2	14	6.63	0.07	6.66	6.65	6.63	6.64	6.62	6.62	6.62	6.51~6.75	1.06
样本 3	14	9.95	0.08	10.0	9.96	9.93	9.92	9.91	9.90	9.91	9.81~10.09	0.80
-20 ℃												
样本 1	14	4.95	0.07	4.97	4.96	4.94	4.91	4.91	4.92	4.89	4.83~5.07	1.41
样本 2	14	6.63	0.07	6.64	6.63	6.64	6.61	6.60	6.60	6.57	6.51~6.75	1.06
样本 3	14	9.95	0.08	9.99	9.96	9.94	9.92	9.90	9.89	9.86	9.81~10.09	0.80

2.2 贫血对测定结果的影响 见表 2, 20 份重度贫血标本直接测定与手工稀释法增加样本体积重测结果比较, 2 份结果有“\*”标志, 为超出线性所致。查看 20 份样本的色谱图, 血红蛋白总面积都有“\*”标志, 查看其曲线下面积, 所有血红蛋白总面积都小于 150 万 (VARIANT II 要求血红蛋白面积在 150~450 万之间才可报告结果), 采用手工稀释法增加样本量如 7 μL+1.5 mL 稀释液混匀后重新测定, 所有“\*”标志消失, 结果如图, 手工稀释法的结果高于直接测定的结果。由此可见重度贫血对 HbA1c 的测定是有影响的, 会使测定的结果偏低, 当血红蛋白浓度过低时, 应该加大样本加入量, 提高信号强度, 减少 HbA1c 测定误差, 去除血红蛋白浓度因素的干扰。

表 2 20 份重度贫血标本直接测定与手工稀释法增加样本体积重测结果比较

样本编号	直接测定结果(%)	手工稀释法(%)	差值
1	9.8	10.1	-0.3
2	6.6	6.8	-0.2
3	4.3	4.6	-0.3
4	5.9	6.2	-0.3
5	3.5*	6.0	-2.5
6	12.3	12.5	-0.2
7	6.9	7.0	-0.1
8	7.4	7.6	-0.2
9	7.2	7.4	-0.2
10	5.8	6.0	-0.2
11	5.6	5.8	-0.2
12	3.6*	5.8	-2.2
13	9.5	9.8	-0.3
14	8.1	8.3	-0.2
15	8.7	8.9	-0.2
16	6.9	7.1	-0.2
17	7.5	7.7	-0.2
18	7.9	8.1	-0.2
19	6.8	7.1	-0.3
20	7.2	7.4	-0.2

3 讨 论

HbA1c 是广泛使用的慢性高血糖的标志物, 反映了过去 2

个月的平均血糖水平<sup>[3]</sup>。2010 年美国糖尿病协会指出: 如果 HbA1c 值在 5.7%~6.4%, 那么在 5 年内患糖尿病的风险极高, 当数值在 5.5%~6.0% 时, 应该采取预防措施, 并推荐 6.5% 作为糖尿病患者诊断的新标准, 因此, 测定 HbA1c 的准确性和可靠性就显得越来越重要<sup>[4-8]</sup>。BIO-RAD VARIANT II 采用离子交换高效液相色谱分析, 仪器自动混匀标本, 避免了标本沉降所带来的影响, 可检测多种异常血红蛋白。在使用过程中, 要注意一些特殊的情况, 减少检测的误差, 发出与临床准确一致的报告, 为糖尿病患者的诊断和治疗提供准确的参考依据。通过对 VARIANT II 的实验条件及实验因素的探讨, 本研究发现, 样本若放置于常温下, 高值样本在第 5 天就出现了超出可接受范围, 低值和中值样本在第 6 天出现了超出可接受范围, 因此, 未检测和每天检测后保存以备复查的标本, 应该放置于 2~8 ℃ 冰箱内, 以保证结果的准确。对于重度贫血的样本, 直接采取手工稀释法检测, 避免试剂的浪费和结果的准确。在 HbS/C/E/D 变异体存在时, 可报告 HbA1c 结果, VARIANT II 的高分辨率可以消除 LA1c 和 CHb 的干扰, 但是当 HbF 的值大于 15% 时, HbA1c 的结果不能报告, 一定切记。仪器维护保养不到位, 特别是分离柱和管路系统污染严重时, 会影响仪器的测定结果, 此时须用 5% 的次氯酸钠清洗管路或更换分析柱, 以保证结果的准确。

参考文献

- [1] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes - 2010[J]. Diabetes Care, 2010, 32(Suppl 1): S13-S61.
- [2] 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: 347-351.
- [3] 周新, 府伟灵. 临床生物化学与检验[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 33-60.
- [4] 王毅, 白雪, 张凯, 等. HbA1c 对创伤后高血糖性质的鉴别价值[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(8): 591.
- [5] 俞丹, 向爱华, 邓红英, 等. HbA1c 和空腹血糖在糖尿病筛查中的应用价值[J]. 中国糖尿病杂志, 2011, 19(11): 809-811.
- [6] 关美萍, 薛耀明, 谢翠华, 等. HbA1c 对糖尿病诊断价值的探讨[J]. 中国糖尿病杂志, 2011, 19(11): 819-820.
- [7] 宁光. HbA1c: 临床应用中的几个问题[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2011, 27(5): 365-366.
- [8] 彭国萍. 糖化血红蛋白在糖尿病诊断治疗中的意义[J]. 当代医学, 2012, 18(22): 63.

(收稿日期: 2012-06-19)