

自肾排出,3~4 d 内排出 50%~70%,低分子右旋糖酐半衰期约为 3 h^[2]。但从以上的病例来看在使用右旋糖酐的过程中蛋白测定均有异常升高,而停药后有复查的 3 例病例来看,最短的是 5 d,因此建议临床医生如果在使用右旋糖酐过程中发现有总蛋白异常,应在停药至少 3 d 以上重新复查,必要时在 5 d 以上再复查,以确定血清蛋白的准确值。

3.4 有文献报道,在双缩脲试剂中添加 15 mL/L 甘油,可有效地消除这一干扰,恢复血清总蛋白测定的准确性^[3],或将双缩脲试剂中的酒石酸钾钠含量加大,氢氧化钠浓度降低,其他成分不变,改良后的双缩脲试剂可消除右旋糖酐对总蛋白测定的干扰^[3-7]。因此,对于检验科来说可通过以上方法来解决这一问题,但考虑成本及操作问题,建议临床医生在给患者使用右旋糖酐之前应先进行蛋白的测定,消除由此造成的总蛋白测定影响。

参考文献

[1] 宋新华. 右旋糖酐干扰双缩脲法检测血清总蛋白的实验研究[J] • 检验技术与方法 •

糖化血红蛋白酶法与 HPLC 法检测方法学比对分析

唐 寅

(张家港市中医医院检验科, 江苏张家港 215600)

摘要:目的 应用 EP evaluator 软件对酶法糖化血红蛋白(HbA1c)试剂盒与离子交换高效液相色谱法(HPLC)测定系统进行方法学比对。**方法** 按照美国临床实验室标准委员会(CLSI)EP9-A2-IR 文件规定程序,使用酶法及 HPLC 法两种方法,对人抗凝全血进行 HbA1c 测定,应用 EP evaluator 软件中的定量方法学比较(AMC)模块对结果进行比对分析。**结果** 酶法试剂与 HPLC 法结果相符,相关性好。AMC 分析表明,其 Deming 回归方程为:Y=1.004X-0.100(r=0.994 6),可满足临床检测需求。**结论** 同 HPLC 法相比,酶法检测 HbA1c 相关良好,偏差较小,可完全满足临床对 HbA1c 检测需求,可以作为中小型医院常规检测 HbA1c 的方法。EP evaluator 软件是中小型医院临床检验实验室在引入新方法或者新检验系统进行方法学评价的有效方法。

关键词:糖化血红蛋白; 酶法; HPLC 法; 方法学比对; EP9-A2-IR; EP evaluator
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.044 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)20-2730-02

最新 WHO 有关糖尿病咨询报告中,专家组指出,在严格的实验质量控制下,实验结果可溯源至国际标准化体系,而且不存在干扰测定结果精确性的情况时,可以用于糖尿病诊断^[1]。在目前情况下,测定 HbA1c 的方法有几十种,如 HPLC 法、离子交换层析法、电泳法、亲和层析法、免疫法、离子捕捉法和新近推出的酶法^[2-3],中小型医院财力有限,如何评价并选择性能良好、结果可靠的试剂应用于临床诊断显得十分重要。

HbA1c 酶法测定可以有很好的精密度,与常规 HPLC 法及免疫测定法有很好的相关性,提供了一个如临床生化反应一样快速、均一的反应体系(如葡萄糖等),不需要昂贵、专用的仪器,成本比较低,比较适合中小型医院使用。

本文对本院新近引进的日本积水公司生产的酶 HbA1c 试剂盒与 Biorad D-10 HPLC 检测系统进行方法学比对,评价酶法 HbA1c 试剂盒是否可作为中小型医院常规检测 HbA1c 的方法。为比较上述两种可溯源性检测系统测定 HbA1c 结果的差异,探讨其可比性,实验数据以国际临床实验评价方案系列文件应用软件进行定量方法学比对(AMC)分析。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集本院糖尿病患者 EDTA·Na 抗凝样本 40 份,用于相关性及偏倚分析。参照 CLSI EP9-A2-IR 评价方案^[5]制备标本,每日收集 8 份不同浓度的本院门诊及住院患者

检验医学与临床,2009,6(4):286.

[2] 张建立,石春雷,汪英,等. 应用右旋糖酐应注意的几个问题[J]. 中国社区医师,1993,8(1):12-13.

[3] 张利军. 用甘油消除右旋糖酐对总蛋白测定的干扰[J]. 检验医学,1991,6(1):9.

[4] 高志亮. 防止右旋糖酐对血清总蛋白定量的干扰[J]. 检验医学,1992,7(1):32-33.

[5] 张选玉,江福民,李素芳,等. 血清总蛋白测定右旋糖酐引起干扰的消除方法[J]. 临床检验杂志,1991,9(4):44-45.

[6] 齐振普,冯毓卿,巫清风,等. 能消除脂质与葡聚糖干扰的总蛋白测定方法[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册,1994,2(增刊):186-187.

[7] 陆永绥,潘秋英,陈秀枢,等. 血清总蛋白测定不同双缩脲试剂及标准化评价[J]. 临床检验杂志,1996,14(3):115-117.

(收稿日期:2013-04-18)

新鲜全血标本,其浓度范围见表 1。

指标	表 1 标本的浓度范围分布			
	浓度范围(%)			
	4.1~<6.0	6.0~<7.5	7.5~<10.0	>10.0
例数(n)	14	10	11	5
百分比(%)	35.0	25.0	27.5	12.5

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 Olympus AU640 全自动生化分析仪(日本,奥林帕斯公司);Biorad HbA1c 离子交换高效液相色谱法(HPLC)全自动 HbA1c 分析仪 D-10(美国,伯乐公司)。

1.2.2 试剂 酶法 HbA1c 试剂盒(批号:817RDI);内含试剂 1 和试剂 2 及前处理液;校准品(浓度为 4.7%和 10.1%,批号:806RGG)均由日本积水医疗株式会社提供。Biorad D-10HbA1c 仪所用洗脱缓冲液 1(批号:AA10236)、洗脱缓冲液 2(批号:AA10237)、洗脱缓冲液 3(批号:AA10238);校准品(浓度为 5.5%和 10.6%,批号:S10100);灌注液(批号:S02708)及分离柱(批号:A00150Q)均购于 Biorad 公司。

1.3 比对方案 HPLC 法试剂与 D-10 分析仪配套,参加 NG-SP 计划,此系统作为参比系统(X);将酶法检测系统作为评估

系统(Y)。按照操作规程,实验前对仪器进行常规维护保养,并对仪器进行校准,然后测定质控物,结果在控时才测定样本。依据 EP9-A2-IR 文件,分别用两种检测系统对样本进行双份重复测定,测定顺序为:1~8,8~1,以上步骤重复 5 d,共分析 40 份样本,同批标本分析均在 2 h 内分别开始。将实验结果输入 EP evaluator 分析软件进行 AMC 分析。

2 结果

2.1 酶法与 HPLC 法的方法学定量相关性分析 酶法 HbA1c 试剂盒与 HPLC 法散点图见图 1A,将 Yi(酶法测定值)与 Xi(HPLC 法测定值)作图,直观显示数据集中趋势及离散程度;可看出二者测定值集中趋势明显,未见离群点。EP evaluator 软件线性回归模型利用 Deming 回归法,其与常规最小二乘法回归的区别在于此回归模型考虑了自变量(X)的测量误差,更适用于临床实验的回归分析。Deming 线性回归结果为: $Y = 1.004X - 0.100$,标准误差 0.250($r = 0.9946 > 0.975$),二者相关性良好。图 2B 偏倚分析图是将 (Yi-Xi) 与 Xi 作图,计算平均偏倚,评估两种方法间偏差程度。图中黑色虚线显示两种方法平均偏倚接近 0,说明两种方法测定值间偏差很小。

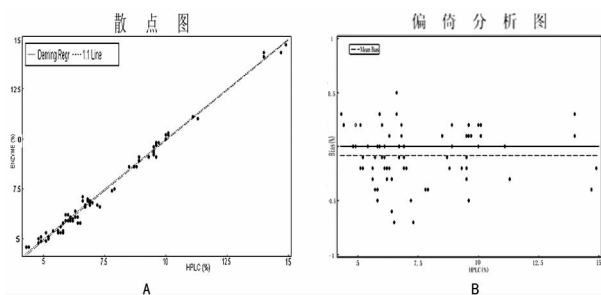


图 1 酶法与 HPLC 法散点图和偏倚分析图

2.2 临床可接受性能判断 按照 CLIA'88 要求,以美国糖尿病学会要求的允许误差标准:HbA1c<5%来判断,以允许误差标准±5%的 1/4 为可接受偏倚,计算医学决定水平时的预期偏倚及其可信区间。结果显示,在两个给定医学水平处,其预期偏差均小于 HbA1c 检测的允许偏倚范围(5%可接受误差范围的 1/4)。酶法与 HPLC 法偏差在可接受范围内,方法性能相当。在临床应用上酶法 HbA1c 试剂盒不会对诊断造成误差。

3 讨论

HbA1c 是血中葡萄糖与红细胞内血红蛋白非酶促反应形成的一种糖蛋白,反映测定前 2~3 个月内患者平均血糖水平,其水平与血糖浓度呈正相关,是目前国际上评价长期血糖控制的金标准。以前仅用于回顾随时间变化的糖尿病病情控制情况。美国糖尿病学会(ADA)于 2010 年 1 月正式发布 HbA1c 作为糖尿病第 4 条诊断标准,其诊断标准为 HbA1c≥6.5%。由于目前我国在 HbA1c 检测中标准、方法等均有待提高,故尚未采用这一标准^[4-5]。

HbA1c 测定准确性直接关系到临床治疗效果,但实验室中常用的 HbA1c 测定方法因原理不同,所测组分有差异,加上不稳定血红蛋白 HbS、HbC 等影响,使测定结果准确度、重复

性、甚至样品稳定性都难以保证,致实验室间结果差异较大,更谈不上可比性和溯源性^[6-7]。

采用 HPLC 方法作为 HbA1c 酶法检测的参照,是因 HPLC 法达到临床需要的稳定性和精密度,美国 HbA1c 标准化计划(NGSP)将其作为参考方法。美国临床化学协会(AACC)、GHb 标准化分会和 IFCC HbA1c 标准化工作组也建议,以 HPLC 方法作为 GHb 检测的金标准^[5]。

本文按 CLSI-EP-9-IR^[8]要求进行实验,用 EP evaluator 软件对数据进行处理,评价酶法 HbA1c 试剂盒与 HPLC 法 HbA1c 测定值相符性,初步结果显示酶法试剂检测 HbA1c 与 HPLC 法具有相同的临床应用价值。ISO 15189 明确要求,使用非配套分析系统的实验室应按照 CLSI-EP-9-IR 文件要求与配套分析系统结果比对,从而验证分析系统有效性,本文在这方面进行了探索,以期获得一个正确和方便易用的评价程序。结果表明,酶法试剂盒检测 HbA1c 相关良好,偏差较小,可完全满足临床对 HbA1c 检测需求,可以作为中小型医院常规检测 HbA1c 的方法。EP evaluator 软件是临床检验实验室在引入新方法或者新检验系统进行方法学评价的有效方法,在此推荐给同行以供参考。

参考文献

- [1] 刘蔚,周翔海,纪立农.用糖化血红蛋白诊断糖尿病-WHO 咨询报告[J].中国糖尿病杂志,2011,19(1):2-10.
- [2] Goodall I, Colman PG, Schneider HG, et al. Desirable performance standards for HbA(1c) analysis - precision, accuracy and standardisation; consensus statement of the Australasian Association of Clinical Biochemists (AACB), the Australian Diabetes Society (ADS), the Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA), Endocrine Society of Australia (ESA), and the Australian Diabetes Educators Association (ADEA)[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(8):1083-1097.
- [3] Penttilä I, Penttilä K, Halonen T, et al. Adaptation of the Diazyme Direct Enzymatic HbA1c Assay for a microplate reader at room temperature[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(7):1221-1223.
- [4] 石同才.临床检验诊断手册[M].北京:人民军医出版社,2011.
- [5] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010[J]. Diabetes Care, 2010, Suppl 1:S11-61.
- [6] Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, et al. Effects of sample storage conditions on glycated hemoglobin measurement; evaluation of five different high performance liquid chromatography methods[J]. Diabetes Technol Ther, 2007, 9(1):36-42.
- [7] 黄颖,樊希承.糖化血红蛋白几种常见检测方法[J].临床和实验医学杂志,2009,8(2):126-127.
- [8] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02 医学实验室质量和能力认可准则 (ISO 15189:2007)[M]. 北京:中国计量出版社, 2008.

(收稿日期:2013-02-05)