

and its relation with anti-HBc[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12 (3):482-484.

[6] Miroux C, Vausselin T, Delhem N. Regulatory T cells in HBV and HCV liver diseases; implication of regulatory T lymphocytes in the control of immune response[J]. Expert Opin Biol Ther, 2010, 10(11):1563-1572.

[7] Grüngreif K, Reinhold D, Ansorge S. Serum concentrations of sIL-2R, IL-6, TGF-beta1, neopterin, and Zinc in chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha[J]. Cytokine, 1999, 11 (12):1076-1080.

[8] Sawayama Y, Hayashi J, Kawakami Y, et al. Serum soluble interleukin-2 receptor levels before and during interferon treatment in

patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Dig Dis Sci, 1999, 44(1):163-169.

[9] Kuo A, Gish R. Chronic hepatitis B infection[J]. Clin Liver Dis, 2012, 16(2):347-369.

[10] 王启娟, 万漠彬, 李成忠, 等. 慢性乙型肝炎病人可溶性白细胞介素 2 受体的检测[J]. 青岛大学医学院学报, 2002, 38(1):62-63.

[11] He D, Li M, Guo S, et al. Expression pattern of serum cytokines in hepatitis B virus infected patients with persistently normal alanine aminotransferase levels[J]. J Clin Immunol, 2013, 33(7): 1240-1249.

(收稿日期:2014-03-20)

• 经验交流 •

Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪对糖尿病患者的筛选价值

吴晓宾¹, 李倩璐², 林海标¹, 周海涛¹, 欧财文¹, 柯培锋¹, 徐建华¹, 吴新忠^{1△}

(1. 广东省中医院, 广东广州 510120; 2. 广州医科大学附属第一医院, 广东广州 510120)

摘要:目的 探讨 Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪在地中海贫血(简称“地贫”)检测模式中 P₂ 峰面积对糖尿病患者的筛选价值。方法 选择高、低 2 个不同浓度水平的新鲜血样本对 Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪 P₂ 峰面积进行精密度评价。选取 84 例 EDTA-K₂ 抗凝血样本, 以 HLC-723 G7 糖化血红蛋白分析仪作为参比仪器, 以 Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪作为试验仪器, 将 Bio-Rad VariantTM II 测定的 P₂ 峰和 (P₂+X) 峰的面积比例分别与 HLC-723 G7 糖化血红蛋白分析仪测定的 HbA1c 结果进行回归分析, 计算线性方程和相关系数, 在不同医学决定水平处判断 2 台仪器测量结果的偏差是否可以接受。结果 批内不精密度分别为 0.91% 和 0.94%, 批间不精密度分别为 1.03% 和 2.22%。参比仪器与试验仪器 HbA1c 结果的回归方程分别为 Y₁=0.975 8X-0.332 (r²=0.963 8)、Y₂=1.002 9X-0.105 7 (r²=0.958 0), 相关性良好。单独 P₂ 峰的面积与 HLC-723 G7 糖化血红蛋白分析仪检测 HbA1c 结果的回归方程在医学决定水平处的偏差超出允许误差范围, 而 (P₂+X) 峰得到的回归方程在医学决定水平处的偏差在临床允许误差范围内。结论 Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪测定 (P₂+X) 峰面积的结果与 HLC-723 G7 糖化血红蛋白分析仪检测 HbA1c 的结果具有较好的可比性, 在地贫检测模式中通过观察 (P₂+X) 峰的结果对糖尿病患者具有一定的筛选价值。

关键词:地中海贫血; 糖尿病; 血红蛋白; 筛查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.068

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)11-1513-02

糖尿病是一种常见的内分泌代谢障碍性疾病, 其发病率正逐年增加, 有研究显示, 中国糖尿病发病率已高达 9.7%^[1], 患者数量位居世界前列, 因此, 糖尿病的早期筛查、诊断及治疗极为重要。2010 年, 美国糖尿病协会 (ADA) 在《2010 年糖尿病诊治指南》中正式推荐以 HbA1c ≥ 6.5% 作为诊断糖尿病的标准^[2]。目前临床实验室中检测糖化血红蛋白的主要方法是基于离子交换层析的高效液相色谱法 (HPLC), 这种方法也被美国国家糖化血红蛋白标准计划 (NGSP) 定为参考方法^[3]。TOSOH HLC-723 G7 糖化血红蛋白分析仪 (简称“G7 糖化血红蛋白分析仪”) 和 Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪均是采用离子交换 HPLC, 前者可直接检测 HbA1c, 后者在对血液样本进行血红蛋白 A2 和血红蛋白 F 定量检测的同时, 对其他血红蛋白成分, 如 HbA1c、血红蛋白 E 等, 也进行洗脱和定量。文献报道, P₂ 峰面积反映的是样本 HbA1c 的浓度^[4-5]。在 P₂ 峰之前且相邻很近有一面积较小的未知峰, 标注为 X 峰, 推测为 HbA1c 的降解成分。本研究探讨了 Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪测定 P₂ 峰和 (P₂+X) 峰面积与 G7 糖化血红蛋白分析仪测定 HbA1c 的相关性, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集广东省中医院住院和门诊患者 EDTA-K₂ 抗凝静脉血 2 mL, 标本要求新鲜血, 无溶血、无脂浊、无黄疸, 共 84 份。

1.2 仪器与试剂 G7 糖化血红蛋白分析仪及原装配套试剂、质控品, Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪及配套地中海贫血 (简称“地贫”) 检测试剂。

1.3 方法

1.3.1 精密度评价 选取 HbA1c 高、低 2 个不同浓度水平的新鲜血样本, 在 Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪按地贫检测模式 1 d 内连续测量 20 次, 采集 P₂ 峰面积数据, 计算批内不精密度 (CV_{批内}); 选取 HbA1c 高、低 2 个不同浓度水平的质控品每天检测 1 次, 连续 20 d, 采集 P₂ 峰面积数据, 计算批间不精密度 (CV_{批间})。

1.3.2 样本检测 在 2 台仪器室内质控在控的情况下, 84 份患者新鲜全血标本分别在 G7 糖化血红蛋白分析仪检测 HbA1c, 在 Bio-Rad VariantTM II 血红蛋白分析仪上完成血红蛋白成分分析, 采集 P₂ 峰和 (P₂+X) 峰的面积比例。(下转插 II)

△ 通讯作者, E-mail: wuxinzhong5054@163.com。

(上接第 1513 页)

1.4 统计学处理 所有数据均采用 Excel 2003 软件进行统计处理。以 G7 糖化血红蛋白分析仪检测的 HbA1c 结果作为参比, Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析仪检测的 P₂ 峰面积和 (P₂+X) 峰面积为比对结果, 分别计算线性回归方程和相关系数。以 ADA 制订的允许误差范围为判断标准^[6], 在医学决定水平处判断两者的偏差在临床是否可接受。

2 结 果

2.1 精密度试验 按照卫生部临床检验中心临床化学质量控制允许偏倚范围, HbA1c 的允许误差限值为靶值±20%, 因此, CV_{批内} 达到小于 1/4 允许误差限值(5.00%), CV_{批间} 达到小于 1/3 允许误差限值(6.67%)的要求, 临床上才可接受。Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析仪测定 P₂ 峰面积的不精密度结果符合要求, 见表 1。

表 1 Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析仪
不精密度评价(%)

项目	水平 1			水平 2		
	\bar{x}	s	CV	\bar{x}	s	CV
批内	5.9	0.04	0.94	10.5	0.06	0.59
批间	5.1	0.05	1.03	9.7	0.06	2.22

2.2 相关性分析

2.2.1 相关性比较 以 G7 糖化血红蛋白分析仪测定值为 (X), Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析仪测定 P₂ 峰面积值为 (Y₁), 测定 (P₂+X) 峰面积值为 (Y₂), 直线回归方程为 Y₁ = 0.975 8X - 0.332, r² = 0.963 8; Y₂ = 1.002 9X - 0.105 7, r² = 0.958 0, 两者 r² > 0.95, X 取值范围、斜率和截距均符合要求。

2.2.2 预期偏差评估 在 HbA1c 医学决定水平处, G7 糖化血红蛋白分析仪测定结果与 Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析仪测定 P₂ 峰面积和 (P₂+X) 峰面积值的预期偏倚和相对偏倚进行评估, 见表 2、3。

表 2 医学决定水平处的 P₂ 峰面积预期偏倚和
相对偏倚(%)

医学决定水平(Xc)	Y	偏倚	相对偏倚	判断标准	可接受性
6.50	6.01	-0.49	-7.54	5.00	不可接受
10.00	9.43	-0.57	-5.70	5.00	不可接受
16.00	15.28	-0.72	-4.50	5.00	可接受

表 3 医学决定水平处的 (P₂+X) 峰面积预期偏倚和
相对偏倚(%)

医学决定水平(Xc)	Y	偏倚	相对偏倚	判断标准	可接受性
6.50	6.41	-0.09	-1.38	5.00	可接受
10.00	9.92	-0.08	-0.80	5.00	可接受
16.00	15.94	-0.06	-0.40	5.00	可接受

3 讨 论

Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析系统为目前美国 FDA 完成临床检验验证的 HPLC 血红蛋白分析系统^[3], 主要用于筛查 β 型地贫。Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析仪由 2 个模块构成, 即 Variant II 层析站 (VCS) 和 Variant II 取样站

(VSS), 它应用离子交换层析 HPLC 针对理化性质差异所致的不同血红蛋白在相应色谱柱中保留时间不同和洗脱血红蛋白量不同, 将各种成分洗脱出来, 根据洗脱时间进行血红蛋白种类定性和定量分析, 从而对人全血的血红蛋白 F (HbF)、血红蛋白 A2 (HbA2) 的准确测定。在 HbF 和 HbA2 被洗脱出来的过程中, 同时也洗脱出 2 个相邻很近的吸收峰, 即 P₂ 峰和 X 峰。在糖尿病患者标本中会有典型的 P₂ 峰升高^[3], 将 P₂ 峰面积的检测结果与 G7 糖化血红蛋白分析仪检测 HbA1c 的结果进行比对, 两者作直线回归方程为 Y₁ = 0.975 8X - 0.332 (r² = 0.963 8), 在医学决定水平和糖尿病的诊断标准处, 6.50% 和 10.00% 两个点的偏差均超出临床允许误差范围, 均为负偏倚。而将 (P₂+X) 峰的检测结果与 G7 糖化血红蛋白分析仪检测 HbA1c 的结果进行比对, 两者作直线回归方程为 Y₂ = 1.002 9X - 0.105 7 (r² = 0.958 0), 在医学决定水平和糖尿病的诊断标准处, 相对偏倚小于 5%, 两者偏差均在临床允许误差范围内, 两者有良好的相关性。

徐湘民等^[3]编写的《地中海贫血预防控制操作指南》指出, Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析仪各个检测峰当中, P₂ 峰的结果在糖尿病患者标本中会升高, 但未对 X 峰进行说明, 由于 X 峰先于 P₂ 峰被洗脱出来, 与 P₂ 峰相邻很近, 且 (P₂+X) 峰面积的检测结果与 G7 糖化血红蛋白分析仪检测 HbA1c 的结果具有良好的相关性, 故笔者推测, X 峰很可能是降解的糖化血红蛋白, 这一结论需进一步论证。由于 G7 糖化血红蛋白分析仪使用国际公认的金标准 HPLC 法检测, 结果不受人为因素影响, 是目前检测 HbA1c 的金标准。因此, 笔者认为结合 (P₂+X) 峰面积的检测结果进行分析, 更能反映糖尿病患者的相关情况。实验室在现有的条件下, Bio-Rad Variant™ II 血红蛋白分析仪在不需要更换糖化血红蛋白专用层析柱和试剂的情况下, 通过对 (P₂+X) 峰面积的结果分析, 可以对早期和隐性糖尿病患者进行筛选, 对糖尿病患者的治疗结果进行监测。这也扩大了 Bio-Rad Variant II 血红蛋白分析仪在筛查 β 型地贫之外的功能。一旦发现 (P₂+X) 峰面积偏高, 应及时与临床和患者沟通, 进行确诊试验, 为患者及早发现糖尿病和及时诊治、监测血糖提供帮助。

参考文献

- [1] Yang WY, Lu JM, Weng JP, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [2] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010[J]. Diabetes Care, 2010, 33(Suppl 1): S11-61.
- [3] 徐湘民, 张革新, 陈荔丽. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 北京: 人民军医出版社, 2011.
- [4] Giambona A, Vinciguerra M, Cassarà F, et al. Hb Marineo [β70 (E14) Ala→Val]: a silent hemoglobin variant with a mutation within the heme pocket[J]. Hemoglobin, 2006, 30(2): 139-148.
- [5] Castelli R, Tempesta A, Bianchi A, et al. Unreliable estimation of HbA1c due to the presence of Camperdown haemoglobin [β 104 (G6) Arg→Ser][J]. Diabet Med, 2004, 21(4): 377-379.
- [6] 周丹秋, 王东明, 冯仁丰. 免疫抑制比浊法测定 HbA1C 的可靠性评价[J]. 临床检验杂志, 2003, 21(5): 291.

(收稿日期: 2014-03-15)