

• 论 著 •

AU2700 生化分析仪检测血清糖化清蛋白的性能评价

闫慧慧, 黄勤烽, 安平平, 廖 剑, 陈 敏[△]

(南京军区福州总医院全军临床检验医学研究所, 福建福州 350025)

摘 要:目的 应用 AU2700 生化分析仪对酶法测定血清糖化清蛋白(GA)试剂盒进行性能评价。方法 依据 CLSI-EP 有关文件对 Lucica GA-L 测定试剂盒的精密性、准确性、线性范围及参考范围进行性能评价;比较两种试剂盒(酶法)检测结果的相关性。结果 该试剂盒精密度高($CV < 3\%$);稀释线性良好;GA 的平均回收率为 97.7%,清蛋白(ALB)的平均回收率为 96.43%;两种试剂盒检测结果具有良好的相关性($r^2 = 0.976, P < 0.01$)。结论 Lucica GA-L 测定试剂盒在该实验室 AU2700 全自动生化仪上分析性能良好与厂家声明一致,可较好的应用于临床。

关键词:糖化清蛋白; 糖尿病; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.05.016

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)05-0613-02

Performance evaluation of AU2700 biochemical analyzer for detecting serum glycated albumin

Yan Huihui, Huang Qinfeng, An Pingping, Liao Jian, Chen Min[△]

(Research Institute of Clinical Laboratory Medicine, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou, Fujian 350025, China)

Abstract: Objective To use the AU2700 biochemical analyzer to evaluate the performance of the reagent kit for determining serum glycated albumin(GA) by the enzymatic method. **Methods** On the basis of the relevant documents of CLSI-EP, the performance evaluation of the Lucica GA-L reagent kit for detecting GA was performed on the precision, accuracy, linearity range and reference range; the correlation between the results detected by the two kinds of reagent kit (enzymatic method) was analyzed. **Results** The reagent had high precision($CV < 3\%$); the dilution had good linearity; the average recovery rate of GA was 97.7%, the average recovery rate of albumin(ALB) was 96.43%; the detection results by the two kinds of reagent kit had good correlation ($r^2 = 0.976, P < 0.01$). **Conclusion** The Lucica GA-L reagent kit shows the good analytical performance on the AU2700 biochemical analyzer, which is consistent to the manufacturers statement and can be better used in clinic.

Key words: glycated albumin; diabetic; performance evaluation

目前,糖尿病患者葡萄糖代谢水平的监测主要有血糖(Glu)、糖化血红蛋白(HbA1c)、糖化清蛋白(GA)这3个指标。Glu反映的是机体内瞬时血糖水平,影响因素多重性差;HbA1c作为监测糖尿病患者长期(2~3个月)血糖控制状况的金标准已广泛应用于临床^[1],由于血红蛋白半衰期较长,更新速率低于清蛋白(ALB),所以GA可以作为一个短期(1~2周)血糖检测的可靠指标,其在反映血糖控制效果上比HbA1c更敏感及时,也是对HbA1c检测结果的有益补充^[2]。本研究拟对Lucica GA-L测定试剂盒(酶法)进行临床性能评价,验证其能否满足临床使用的要求。

1 材料与方法

1.1 材料 本院门诊、住院患者及健康体检者的血清样本。

1.2 仪器与试剂 日本 Olympus AU2700 全自动生化分析仪;日本旭化成制药株式会社酶法 Lucica GA-L 测定试剂盒(批号 1013A),校准品(批号 1302A)、质控品(批号 302A);国产 GA 测定试剂盒(酶法)(四川迈克公司,批号 20140116)。

1.3 检测原理及参数设置

1.3.1 GA 检测原理 在血清或血浆中,首先加入酮胺氧化酶(KAOD),将内源性的糖化氨基酸转化成葡萄糖酮醛和双氧水而除去。处理液中的蛋白酶,与 GA 特异反应,生成糖化氨基酸。糖化氨基酸在 KAOD 作用下生成葡萄糖酮醛、氨基酸和双氧水。生成的双氧水在显色剂作用下生成蓝紫色的色素。测量该色素的吸光度并根据标准曲线求得 GA 浓度。

1.3.2 ALB 检测原理 在血清或血浆中,加入前处理液作用于蛋白的-SH 基,将还原型 ALB 变成氧化型 ALB。加入溴甲酚紫(BCP)与 ALB 结合,生成蓝色的复合物,测定此复合物的吸光度来定量 ALB 浓度。

1.3.3 仪器参数设置 将 GA 浓度除以 ALB 浓度,计算出 GA 值。GA 测定参数采用双试剂终点法,波长(主/次)540 nm/700 nm,样本 4.0 μ L,1 试剂 160 μ L,2 试剂 40 μ L,反应时间 10 min;ALB 测定参数采用双试剂终点法,波长(主/次)600 nm/700 nm,样本 2.0 μ L,1 试剂 160 μ L,2 试剂 80 μ L,反应时间 10 min。

1.4 方法

1.4.1 性能评价 使用 Lucica GA-L 测定试剂盒测定样本 GA,并对该试剂盒进行准确度、精密性、线性范围、干扰因素、参考范围等方面进行性能评价,并与试剂厂家声明的参数进行比较。

1.4.2 试剂比对 分别采用进口 Lucica GA-L 测定试剂盒和国产 GA 测定试剂盒测定 GA 的值,每天测量 5 份标本,测量 4 d,比较两种试剂盒测定结果的相关性。

1.5 统计学处理 采用 Excel2007 以及 SPSS 10.0 软件进行统计学分析,相关分析采用线性相关, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密性试验 按照 EP12-A 评价方案分别对低值、高值

质控样本连续测定 20 次;每天重复测定 4 次,连续 5 d。计算精密度。低值质控均值为(13.3±0.27)g/L,CV 2.4%,高值质控均值为(32.3±0.09)g/L,CV 2.9%,均小于厂家声明 CV 3%,符合要求。

2.2 准确度试验 以 GA 浓度 5.08 g/L,ALB 浓度 40.9 g/L 的血清作为基础样本,以 GA 浓度为 6.95 g/L,ALB 浓度 45.0 g/L 以及 GA 浓度 7.85 g/L,ALB 浓度 45.0 g/L 的两份血清样本作为回收样本。经回收试验,计算得出 GA 浓度的平均回收率为 97.7%,ALB 的平均回收率为 96.4%。结果见表 1。

表 1 Lucica GA-L 试剂盒的准确度试验				
项目	基础浓度 (g/L)	加入浓度 (g/L)	回收浓度 (g/L)	回收率 (%)
GA 基础样本	5.08	—	—	—
GA 分析样本 1	6.95	1.85	1.87	100.8
GA 回收样本 2	7.85	2.93	2.77	94.5
GA 平均回收率	—	—	—	97.7
ALB 基础样本	40.90	—	—	—
ALB 分析样本 1	45.00	4.31	4.10	95.0
ALB 回收样本 2	45.00	4.20	4.10	97.7
ALB 平均回收率	—	—	—	96.4

—:无数据。

2.3 线性范围试验 按照 CLSI EP-6A 的评价方案,选择 GA 值为 3.8%(GA 浓度为 0.73 g/L,ALB 浓度为 19.4 g/L)的低值血清(L)和 GA 值为 69.3%(GA 浓度为 32.1 g/L,ALB 浓度为 46.3 g/L)的高值血清(H),按 L、0.9L+0.1H、0.8L+0.2H、0.7L+0.3H、0.6L+0.4H、0.5L+0.5H、0.4L+0.6H、0.3L+0.7H、0.2L+0.8H、0.1L+0.9H、H 比例配制 11 个样本,测试 3 次,计算平均值。以 X 为实际值,Y 作为检测值进行回归分析,其回归方程:Y=0.990 6X($r^2=0.997\ 7$),符合厂商声明的 GA 试剂盒的线性范围为 3.2%~68.1%。

2.4 参考范围试验 收集 20 例体检报告显示健康(Glu:3.6~6.1 mmol/L,ALB:35~55 g/L,近期末服用非药物或饮食治疗,无心血管、肾、肝胆胰等器质性疾病)的体检人员血清标本,分别测定 GA。结果显示测定值(12.3%±1.1%)均在参考范围内(11%~16%)。

2.5 进口与国产 GA 测定试剂盒比对 5 份 GA 高值(>16%)、5 份 GA 低值(<11%)、10 份 GA 在正常范围内(11%~16%)共计 20 份健康体检者血清(无溶血及脂血),分别采用进口 Lucica GA-L 测定试剂盒(酶法)和国产 GA 测定试剂盒(酶法)测定 GA 值,每天测量 5 份标本,测量 4 d。结果显示进口 GA 测定试剂盒(酶法)测定 GA 值与国产 GA 测定试剂盒(酶法)测定 GA 值具有良好的相关性($r^2=0.976$, $P<0.01$),回归方程为 Y=1.081X+0.004。

3 讨 论

糖尿病是一种常见的内分泌疾病,如果患者长期处于血糖控制不良的状态,将会导致慢性并发症的发生。糖尿病治疗的主要目的是维持糖尿病患者血糖值在正常或接近正常的水平,从而预防慢性并发症的发生和抑制其进展,严格地控制血糖水平是治疗糖尿病及预防其各种并发症的有效手段。GA 测定可反映糖尿病患者较近期的血糖水平,医师可及时地估计糖尿病患者较近期的治疗效果,是临床监护糖尿病患者一个很有意

义的指标。许翔等^[3]等研究表明,糖尿病患者 GA 水平明显高于健康对照组,且与空腹血糖呈正相关,并推断 GA 的结果可以用于糖尿病的筛选。研究表明,GA 不仅仅可以监测血糖水平,还与糖尿病并发症,如糖尿病肾病和视网膜病变的进展具有良好的相关性^[4-5],并且 GA 也对动脉粥样硬化的发生和发展起重要作用^[6]。相比于作为监测长期血糖水平金标准的 HbA1c 来讲,GA 的测定有几大明显优势,一方面 GA 的测定不受进食、胆红素、尿酸、肌酐、维生素 C 及血浆蛋白浓度的干扰,尤其是排除了肝、肾疾病、溶血性贫血和蛋白质结构异常对血红蛋白量的影响;另一方面,当患者体内血糖水平发生变化时,GA 水平变化更为迅速,幅度更大,因此 GA 是监测血糖水平变化的一个较为敏感的指标^[7];此外,GA 也是一种具有高度特异性的反映血糖水平的标志物^[8]。

日本旭化成制药株式会社生产的酶法液态试剂 Lucica GA-L 测定试剂盒可用于 GA 的检测。此酶法液态试剂 GA 在反应的第一步加入糖化氨基酸使检测结果不受内源性糖化氨基酸的影响,并利用对 ALB 有更高特异度的溴甲酚紫法(BCP)替代原来的溴甲酚绿(BCG)法,减少了球蛋白的影响,使 GA 测定更精确^[9]。经本实验室检测分析,该试剂的准确度良好,GA 回收率为 97.7%,ALB 回收率为 96.4%;精密度良好、稀释线性良好。所收集的 20 份健康体检者血清标本 GA 测定值均在说明书声称的参考范围内,提示该参考范围适用于本实验室。Lucica GA-L 测定试剂盒(酶法)和国产 GA 测定试剂盒(酶法)测定 GA 结果具有良好相关性,在临床上是可接受的。

总之,Lucica GA-L 测定试剂盒分析性能良好,能定量分析 GA,并计算其与 ALB 的比值,受到的影响因素较少,具有足够的性能来验证本实验室检测系统的可靠性并能满足临床使用的要求,能较好的应用于临床。

参考文献

[1] 胡婷,温冬梅,张秀明.糖化清蛋白的检测方法及其临床应用研究进展[J].国际检验医学杂志,2014,35(4):444-445.

[2] 欧阳彬,李江,魏玲玲,等.血清糖化清蛋白定量检测系统的性能验证[J].中国医药导报,2014,11(11):82-85.

[3] 许翔,丁莉莉.血清糖化白蛋白检测在糖尿病控制中的应用[J].实用医技杂志,2006,13(3):340-341.

[4] Zheng CM, Ma WY, Wu CC, et al. Glycated albumin in diabetic patients with chronic kidney disease[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(19/20):1555-1561.

[5] Selvin E, Francis LM, Ballantyne CM, et al. Nontraditional markers of glycemia: associations with microvascular conditions[J]. Diabetes Care, 2011, 34(1):960-967.

[6] 李其华.糖化白蛋白与动脉粥样硬化[J].现代诊断与治疗,2006,17(4):221-224.

[7] Lee EY, Lee BW, Kim D, et al. Glycated albumin is a useful glycation index for monitoring fluctuating and poorly controlled type 2 diabetic patients[J]. Acta Diabetol, 2011, 48(1):167-172.

[8] Montagnana M, Paleari R, Danese E, et al. Evaluation of biological variation of glycated albumin (GA) and fructosamine in healthy subjects[J]. Clin Chim Acta, 2013, 423(1):1-4.

[9] Van Dieijen-Visser MP, Seynaeve C, Brombacher PJ. Influence of variations in albumin or total-protein concentration on serum fructosamine concentration[J]. Clin Chem, 1986, 32(8):1610.