

自制糖化血红蛋白质控品及其性能评价

袁学进¹, 李全双², 邓演超² (1. 江苏省海安县中医院检验科 226600; 2. 江苏省徐州市医学科学研究所 221006)

【摘要】 目的 探讨自制溶血液作为乳胶增强免疫比浊法室内质控品的可行性。**方法** 选择糖化血红蛋白(HbA1c)值分别为低值和高值的两个水平肝素抗凝血各 1 份,按试剂说明书,配制成测定用溶血液,分装、-20℃保存。使用 Roche 公司质控品做好室内质控,对溶血液进行性能评价。**结果** 两个水平的溶血液的批内不精密度均小于 2.5%,批内天间不精密度均小于 5%;-20℃保存稳定期可达 3 个月($P>0.05$),瓶间差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 自制两个水平值的糖化血红蛋白质控品是可行的,能够满足实验室室内质控的要求。

【关键词】 糖化血红蛋白; 室内质控; 溶血液; 乳胶增强免疫比浊法; 质控品

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.18.027 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)18-2310-02

Performance of quality control product in self-made for measuring glucosylated hemoglobin YUAN Xue-jin¹, LI Quan-xuan², DEN Yin-cai² (1. Department of Clinical Laboratory, Haian County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Haian, Jiangsu 226600, China; 2. Xuzhou Institute of Medical Sciences, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the feasibility of the hemolysis fluid as internal quality control product. **Methods** According to operation manual, two levels value of heparin anticoagulant bloods were selected, their HbA1c values were low and high, hemolysis fluid was made, packed, preserved at -20℃. Quality control products of Roche were tested for good quality control, the performance of the hemolysis fluid was evaluated. **Results** The term stability of hemolysis fluid in self-made was more than 3 months($P>0.01$), and the value of variation coefficient was less than 2.5%. The difference among bottles was no significant. **Conclusion** Two levels value of hemolysis fluid can meet the requirements of internal quality control, it is feasible.

【Key words】 glucosylated hemoglobin; internal quality control; hemolysis fluid; latex-enhanced immunoturbidimetry assay; quality control product

目前临床上测定糖化血红蛋白(HbA1c)的方法有很多,其中乳胶增强免疫比浊法可以在全自动生化分析仪上简便、快速操作,准确性和精密度良好,受干扰因素少,与参考方法高效液相色谱法(HPLC)进行结果比对的相关性良好,能满足临床应用,该法已被很多医院检验科使用^[1-5]。但是由于不同生产厂家试剂质量不一,且开瓶后试剂的稳定性不一,因此可靠的检验结果必须有严格的室内质量控制作为基础^[6]。然而目前国内并未有统一的质控品生产销售,而进口的质控品价格昂贵,不利于临床工作的开展^[7]。为了保证检验质量,降低运行成本,本实验室自制溶血液作为 HbA1c 室内质控品,对其性能进行评价。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器 试剂盒和定标液均购自浙江东瓯诊断产品有限公司,生产批号 201008004。HbA1c 质控品购自 Roche 公司。仪器为 HITACHI-7180 全自动生化分析仪。

1.2 检测方法 肝素抗凝标本 1 000 r/min 离心,吸取红细胞层 10 μ L 与溶血液 1 000 μ L 按 1:100 比例制备待测溶血液。检测原理是用抗原抗体反应直接测定 HbA1c 的百分含量。按照试剂盒说明书操作,多点定标曲线,由 SPLINE 处理,以测定管 ΔA 的变化值求得 HbA1c 含量。

1.3 方法

1.3.1 低值、高值两个水平溶血液的制备^[8]

1.3.1.1 低值溶血液的制备 选 HbA1c 在 5.0%~6.0% 的 1 份糖尿病患者肝素抗凝全血 2 mL,无细菌污染,乙型肝炎表面抗原、丙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒阴性,无溶血、黄疸、脂浊,按试剂操作说明书比例制备测定用溶血液 50 mL,充分溶解后,用一次性 0.5 mL 带盖塑料离心管分装,每支约 0.30

mL 溶血液,标注批号为当天日期 20110103,置 -20℃ 贮存备用。

1.3.1.2 高值溶血液的制备 参照 1.3.1.1 制备方法,选 HbA1c 在 9.0~10.0 的 1 份糖尿病患者肝素抗凝血 2 mL。

1.3.2 溶血液的使用方法 取出低值和高值两个水平溶血液各 1 支放置 37℃ 水浴中,溶解后轻轻摇动,然后和当天标本一起检测,用后丢弃。

1.3.3 性能评价方法 测试均是在仪器维护保养后,质控品质控良好情况下测定 HbA1c。

1.3.3.1 不精密度测定 批内不精密度测定:在 1 d 内,对两个水平的溶血液连续测定 20 次,分别计算平均值($\bar{x}$)、标准差(s)、变异系数(CV)。批内天间不精密度测定:对两水平的溶血液每天各测定 1 次,连续测定 20 d,分别计算 $\bar{x}$ 、 s 、CV。

1.3.3.2 稳定性试验 每个工作日测定溶血液 1 次,连续测定 3 个月,分别统计每个月的 $\bar{x}$ 、 s 。

1.3.3.3 瓶间差异处理 随机各取两水平溶血液 10 支,每支检测 3 次,分别计算 $\bar{x}$ 、 s 、CV。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件包进行分析。多组比较采用方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

溶血液低值为 5.73% $\pm$ 0.10%,高值为 9.45% $\pm$ 0.15%,低、高值两个标本批内不精密度分别是 1.75%、1.59%,均小于 2.5%。溶血液天间低值为 5.75% $\pm$ 0.25%,高值为 9.47% $\pm$ 0.40%,天间批内不精密度分别是 4.35%、4.22%,均小于 5%,符合检验要求。-20℃ 保存稳定期可以达到 3 个月,每个月之间差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。溶血液瓶间低值为 5.70% $\pm$ 0.09%,高值为 9.47% $\pm$ 0.14%,瓶间变

异系数较小,分别为 1.58%和1.48%,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 溶血液保存 3 个月的稳定性分析 ($\bar{x}\pm s, \%$)		
保存时间	低值	高值
第 1 个月	5.68±0.23	9.48±0.38
第 2 个月	5.72±0.26	9.47±0.41
第 3 个月	5.70±0.24	9.51±0.39

3 讨 论

HbA1c 是国际公认的糖尿病监控“金标准”,能反映糖尿病患者 2~3 个月内糖代谢状况,不受饮食、抽血时间、胰岛素使用等因素影响。目前,我国糖尿病的发病率逐年升高, HbA1c 的检测质量在糖尿病的诊治中起着举足轻重的作用,而我国 HbA1c 检测工作还处于起步阶段^[9]。有资料显示,同一方法实验室间的变异系数在 10%甚至 20%以上,距离国际上 5%的标准还有很大的差距,使得 HbA1c 作为糖尿病筛选、诊断、血糖控制、疗效检测及预防慢性并发症的绝对指标大打折扣^[10]。2007 年上海地区第 1 次调查结果显示临床实验室 HbA1c 的检测,情况令人担忧^[11]。HbA1c 的检测质量对于糖尿病的管理有重要影响,故 HbA1c 的实验室室内质量控制显得尤为重要,而好的室内质控需要质优价廉的质控品。好的 HbA1c 质控品应满足:(1)消除质控品的基质效应问题选择近似人血基质的样本;(2)至少有正常和异常 2 个水平的浓度;(3)为消除瓶间差,尽量选择液体质控品,也方便操作者使用;(4)质控品的稳定期要较长;(5)无传染性^[9]。

实验室应用胶乳增强免疫比浊法测定 HbA1c 时,须将标本红细胞做预处理,即加溶血剂使红细胞彻底溶解,制成要求比例的溶血液,再上机检测。本文探讨用临床标本自制溶血液作为该法的室内质控品;评价低值和高值两个水平溶血液的不精密度、稳定性及瓶间差异。低、高值两个水批内不精密度分别是 1.75%、1.59%,均小于 2.5%,天间批内不精密度分别是 4.35%、4.22%,均小于 5%,符合检验要求^[12]。-20℃保存稳定期可以达到 3 个月($P>0.05$)。同时本研究结果还显示,瓶间变异系数较小,差异无统计学意义。自制两个水平值的溶血液作为 HbA1c 的室内质控品是可行的,能够满足实验室的

室内质控要求。另外,自制溶血液也可以应用于使用该检测方法的实验室室间现场质量监测。

参考文献

[1] 胡进访,吴雁. 糖化血红蛋白检测方法学的研究进展[J]. 医学综述,2010,16(13):2047-2050.

[2] 郑健彬,王翠霞,麦奇. 糖化血红蛋白测定胶乳凝集法在 Beckman 生化分析仪上的应用及评价[J]. 中国热带医学,2006,6(5):858-859.

[3] 李龙平,汤建华,谭亮南. 胶乳增强免疫透射比浊法测定全血糖化血红蛋白 A1C[J]. 现代检验医学杂志,2004,19(6):1-2.

[4] 武永霞,宋倩,王小玉. 离心时间对糖化血红蛋白检测的影响[J]. 西部医学,2010,22(7):1272-1274.

[5] 王瑶,谭炜. 分析前标本不同处理方式对糖化血红蛋白检测结果的影响[J]. 检验医学与临床,2010,7(20):2216-2218.

[6] 居漪. 糖化血红蛋白检测技术和质量控制[J]. 检验医学,2010,25(11):914-917.

[7] 黎卓华,王希平,李鄂,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.

[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,2006:82-87.

[9] 中华医学会检验学分会. 糖尿病诊疗中实验室检测项目的应用建议[J]. 中华检验医学杂志,2010,33(1):11-12.

[10] 王冬环,张传宝,陈文祥,等. 应重视糖化血红蛋白测定技术及量值溯源[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(9):965-968.

[11] 居漪. 糖化血红蛋白检测技术和质量控制[J]. 检验医学,2010,25(11):914-917.

[12] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海:上海科学技术文献出版社,2007:85-111.

(收稿日期:2012-04-27)

(上接第 2309 页)

且 Hcy 与动脉粥样硬化呈正相关,随着动脉狭窄程度的加重, Hcy 水平升高。因此,动态检测 Hcy 水平可观察动脉硬化的病情变化。

本研究结果表明,在 60 岁以下的实验对象中,男性 Hcy 测定结果明显高于女性;两组间的比较结果显示,第 2 组的 Hcy 阳性率明显高于第 1 组,两组间的差异有统计学意义($P<0.01$);在第 2 组测试结果中,男性 Hcy 阳性率明显高于女性,两者之间的差异有统计学意义($P<0.01$),说明高 Hcy 血症有年轻化的趋势,且男性多于女性。

综上所述,高 Hcy 血症与冠状动脉粥样硬化密切相关,是比较肯定的一个心脑血管疾病的危险因素,对于其危害的预防应着重于控制 Hcy 水平。目前采用维生素 B₆、维生素 B₁₂ 以及叶酸的治疗临床上已有报道^[3-4]。维生素 E、维生素 C 及甜菜碱、牛磺酸等研究取得了一定的疗效^[5-6]。由于高 Hcy 血症有年轻化的趋势,临床应该尽早开展 Hcy 常规检查,以方便对心脑血管疾病的早期筛查、早期诊断和早期治疗,对于早期干预心脑血管病的危险因素,减少缺血性心脑血管病的发病有重要的临床意义^[7]。

参考文献

[1] 胡奎. 血清同型半胱氨酸的检测在心血管疾病中的临床价值[J]. 四川医学,2008,29(7):916-917.

[2] 李朝,薛庆凡. 心脑血管疾病患者血同型半胱氨酸水平研究[J]. 中国现代药物应用,2011,5(15):39-40.

[3] 许丽娟,李延兵. 同型半胱氨酸与糖尿病及心脑血管疾病关系[J]. 中国实用内科杂志,2011,31(12):959-960.

[4] 赵玉芳,江晓津,韩仲岩,等. 急性脑梗死患者血浆同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B₁₂ 水平的测定及临床意义[J]. 卒中与神经疾病杂志,2003,10(5):10.

[5] 李水泉,柳茵,刘维军,等. 同型半胱氨酸与冠心病关系的研究进展及临床意义[J]. 北方药学,2011,8(1):83-84.

[6] 李朝,薛庆凡. 心脑血管疾病患者血同型半胱氨酸水平研究[J]. 中国现代药物应用,2011,5(15):39-40.

[7] 王永文,丁树和,曲青玲. 不同年龄段人同型半胱氨酸测定结果分析[J]. 中国实验诊断学,2011,15(11):1968-1969.

(收稿日期:2012-04-13)