

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.10.001

自研糖化血红蛋白床旁检测分析仪的性能评估*

李新华¹, 赵珂¹, 魏芳², 马凯惠¹, 张宪党^{1△}

(1. 山东省内分泌与代谢病研究所, 济南 250062; 2. 山东中医药大学附属医院普外科, 济南 250000)

摘要:目的 对自研糖化血红蛋白床旁检测分析仪进行方法学评价, 为临床应用提供实验依据。方法 选取该院 104 例健康体检者和 82 例糖尿病患者, 采用该仪器检测糖化血红蛋白(HbA1c)水平, 与 Bio-Rad 公司 D10 型糖化血红蛋白分析仪进行对比分析, 确定自研仪器检测 HbA1c 的参考范围。依照特定顺序连续 5 d 测定高、中、低校准品 HbA1c 水平, 计算总不精密度, 偏差、截距、斜率、非线性、漂移。结果 自研检测分析系统测定 HbA1c 批内、批间不精密度均小于 1.50%。总不精密度: 低值 1.298%、中值 0.906%、高值 1.014%, 均小于美国糖尿病协会规定的 5% 允许误差范围。偏差: 低值 -0.01%、中值 -0.03%、高值 -0.05%, 均在允许偏差范围内。斜率、漂移、非线性比较差异均无统计学意义($P > 0.05$), 截距比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。该仪器测定 HbA1c 参考范围为 4.7%~6.3%, 与 Bio-Rad D10 比较, 具有显著的相关性($Y = 1.0049X - 0.0411, P < 0.01$)。标本中常见干扰物在所测水平下对 HbA1c 检测无明显影响。结论 自研糖化血红蛋白床旁检测分析仪性能指标符合临床应用要求, 可用于快速检测。

关键词:糖化血红蛋白; 检测系统; 方法学; 性能评估

中图分类号: R447

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)10-1377-04

The performance evaluation of a HbA1c POCT analyzer*

LI Xinhua¹, ZHAO Ke¹, WEI Fang², MA Kaihui¹, ZHANG Xiandang^{1△}

(1. Shandong Institute of Endocrine & Metabolic Diseases, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250000, China; 2. Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250000, China)

Abstract: Objective To provide experimental data for clinical application, the methodology was used to preliminary evaluation of the Point of Care Testing (POCT) analyzer. **Methods** A total of 104 controls and 82 diabetics were selected for detecting test of the concentration of HbA1c. Bio-Rad D10 HbA1c analyzer was compared with POCT analyzer through the accuracy, specificity, correlation experiments to confirm the normal reference range of HbA1c. A preliminary evaluation of the HbA1c POCT analyzer was made on calibrators at high, middle and low concentrations for a period of 5 days and the deviation of HbA1c total imprecision, the slope carrying pollution nonlinearity and drift were calculated, and *t* test was conducted at the same time. **Results** The intra and inter coefficient of variation were all less than 1.5%. The total imprecision were all less than the permissive 5% ranges of the American Diabetes Association, and the dates were low value 1.298%, middle value 0.906% and high value 1.014%. The low value, middle value and high value deviations within the permissive ranges, the dates were -0.01%, -0.03%, -0.05%, respectively. There were statistical significance in the intercepts, while no statistical significance in their slopes, nonlinearities and drifts. The analyzer's normal reference range of HbA1c was 4.7%~6.3%. The data were well correlated with the results detected by Bio-Rad D10 ($Y = 1.0049X - 0.0411, P < 0.01$). The common interferences had no significant interference on the HbA1c quantitative detection. **Conclusion** The Analyzer was satisfied with the clinical application and could be used for rapid detection of the level of HbA1c.

Key words: hemoglobin A1c; detection system; methodology; performance evaluation

* 基金项目: 山东省重点研发计划项目(2015GSF118131); 山东省医学科学院医药卫生科技创新工程。

作者简介: 李新华, 男, 副主任技师, 主要从事医学免疫学研究。△ 通信作者, E-mail: xiandangzh@163.com。

糖化血红蛋白(HbA1c)是机体血液中血糖与血红蛋白结合的产物,两者结合呈不可逆,其结合速率与平均120 d寿命的红细胞糖化量呈正相关,临床HbA1c水平可反映患者近8~12周的血糖控制情况,作为糖尿病筛查、诊断、长期血糖控制、疗效评估的重要指标^[1-3]。本课题组研发一款HbA1c床旁检测分析仪,基本原理是采用显色型亲和层析法,在3~5 min内实现HbA1c定量检测,更加方便、快捷、准确^[4]。本研究对自研HbA1c床旁检测分析系统进行方法学评价,与美国Bio-Rad公司D10型HbA1c分析仪进行对比分析,为该仪器的临床应用提供实验数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取该院及社区糖尿病筛查患者82例,年龄35~75岁。健康对照组为104例健康体检者,男56例,女48例,年龄22~66岁。所有研究对象分别抽取2 mL静脉血,置于乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)试管中,充分混匀,2~8℃保存。同一标本分别由2种仪器检测1次,1周内完成。

1.2 仪器与试剂 D10型HbA1c分析仪及其配套试剂(试剂批号R1:AA50235,R2:20236)、质控品(批号:33910,L1:5.4%;L2:9.9%)、校准样品(低值样品(level 1,批号AA50119,标定值为5.4%)、高值样品(level 2,批号AA50120,标定值为10.1%),中值样品(level 3,低值和高值等量混合,标定值为7.75%)。自研HbA1c床旁检测分析仪及其配套试剂(试剂批号160318)和质控品(Bio-Rad批号:33910,L1:5.4%;L2:9.9%)^[4]。

1.3 方法

1.3.1 精密度试验 选取含HbA1c低值和高值的新鲜抗凝全血,同批次检测各20次,计算均值(\bar{x})、标准差(s)、变异系数(CV),评估批内精密度;HbA1c低值和高值质控品每天检测2次,连续检测20 d,计算 \bar{x} 、 s 、 CV ,评估批间精密度。批内 CV 可接受范围为小于1.75%;批间 CV 可接受范围为小于2.33%。

1.3.2 相关性试验 选取82例新鲜抗凝全血分别在2种仪器上检测HbA1c并进行比较。以自研仪器检测结果(Y)对Bio-Rad D10检测结果(X)的直线回归方程: $Y=bX+a$, b 可接受范围为0.095~1.05,相关系数 $R^2>0.95$,偏差符合率大于或等于90%(允许偏差:±3.5%)。

1.3.3 参考值范围试验 选取104例健康体检者,纳入标准:血糖、血脂、血常规、肝功能等检查均正常;心电图、胸透、彩超无异常;排除标准:6个月内手术史、4个月内输血/献血史、妊娠者。采用自研仪器检

测健康者HbA1c水平。

1.3.4 干扰试验 每组取3例全血标本,分别收集高中低3个水平的果糖胺、葡萄糖、维生素C、总胆红素、血红蛋白F(HbF)、三酰甘油进行检测。干扰物质分别为:(1)果糖胺:20、10、5 mmol/L。(2)葡萄糖:100、50、25 mmol/L。(3)维生素C:40、20、10 mg/dL。(4)总胆红素:120、60、30 μ mol/L。(5)HbF:20、10、5 mg/dL。(6)三酰甘油:20、10、5 mmol/L。

1.3.5 校准品试验 全部校准品分装后于4℃保存,各水平标本每天取1管,检测之前充分混匀。仪器校准、质控测定,结果在控后进行常规操作。依照EP10-A文件^[5],各标本每天按照中、高、低、中、中、低、低、高、高、中的顺序进行检测,检测5 d。第1个中值为检测起始用,不作统计,其余9个数据中的任何1个不合格都会使该批标本的全部数据作废,须重新检测。

1.4 统计学处理 采用SPSS13.0统计软件及实验室专业评价软件1.82版对数据进行分析。 $P<0.05$ 位为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 离群点分析 横坐标为靶值浓度,纵坐标为测定值与靶值浓度偏差,每天校准品的测定值均标于图上,进行离群点观察,精密度初评。结果显示:无离群点、精密度良好。见图1。

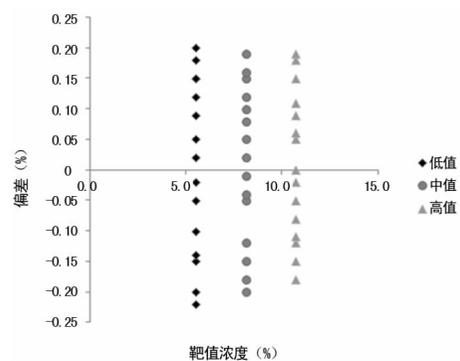


图1 HbA1c离群散点图

2.2 线性评价 横坐标(X)为靶值,纵坐标(Y)为测定值,将低、中、高3个校准品靶值以 $X=Y$ 绘制参考线,低、中、高3个校准品连续检测5 d的结果均值绘制测定线,与参考线比较,对线性、偏差进行初评。结果显示:线性良好、偏差小。见图2。

2.3 偏差分析 偏差以校准品各浓度连续检测5 d的结果均值与其对应靶值之差计算,均未超过设定的范围,判断临床均可以接受。结果显示:高、中、低3个浓度校准品的绝对偏差分别为-0.05%、-0.03%、-0.01%,远低于允许偏差,均可接受。见表1。

2.4 多元回归分析 根据5 d所有数据计算截距、斜

率、非线性、漂移,作回归分析和 t 检验。HbA1c 测定截距差异有统计学意义 ($P < 0.01$),与靶值有恒定误差 ($t > 4.6, P < 0.01$);斜率、非线性、漂移差异均无统计学意义 ($-4.6 < t < 4.6, P > 0.05$)。见表 2。

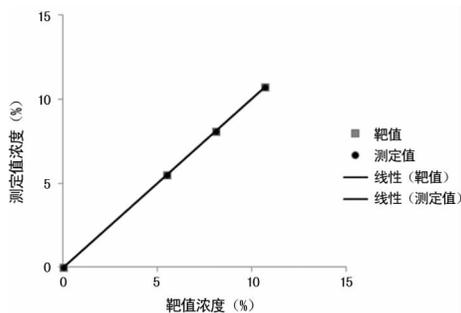


图 2 HbA1c 线性图

表 1 偏差分析 (%)

项目	低值	中值	高值
靶值(X)	5.4	7.75	10.1
均值(Y)	5.39	7.72	10.05
偏差(Y - X)	-0.01	-0.03	-0.05
允许偏差	±0.3	±0.3	±0.3
可接受性评价	接受	接受	接受

表 2 HbA1c 多元回归分析

项目	截距	斜率	非线性	漂移
数值	0.233*	0.998	0.001	0.004
t	10.53	-0.050	0.530	0.501
P	<0.001	0.961	0.623	0.652

注:与靶值回归分析截距比较,* $P < 0.01$

2.5 总不精密度分析 HbA1c 低、中、高 3 个校准品的总不精密度(CV)分别为 1.298%、0.906%、1.014%,远小于美国糖尿病协会规定的 5% 允许误差范围,临床均可接受。见表 3。

表 3 HbA1c 总不精密度分析

检测项目	低值	中值	高值
总批内变异(R)	0.005	0.005	0.010
日间均值变异(S)	0.000	0.002	0.003
校正的日间变异(T)	0.000	0.000	0.000
总不精密度方差(U)	0.005	0.005	0.010
总不精密度标准差(V)	0.070	0.070	0.102
总均值(Y)	5.390	7.720	10.050
总不精密度 CV(%) (W)	1.298	0.906	1.014
允许不精密度 CV(%)	5.000	5.000	5.000
可接受性评价	接受	接受	接受

2.6 精密度试验 自研仪器检测高值与低值全血标

本和质控品,批内与批间不精密度均可接受。见表 4。

表 4 精密度试验结果

HbA1c	批内(n=20)			批间(n=20)		
	\bar{x} (%)	s	CV(%)	\bar{x} (%)	s	CV(%)
低值	5.33	0.066	1.24	5.29	0.074	1.40
高值	10.53	0.115	1.09	9.96	0.127	1.28

2.7 相关性试验 2 种仪器检测 HbA1c 的结果高度相关。自研仪器(Y)对 Bio-Rad D10(X)的直线回归方程: $Y = 1.0049X - 0.0411$ ($R^2 = 0.9982, P < 0.001$),预期偏倚 0.06,相对偏倚 0.83%,偏差符合率 100%,自研仪器与 Bio-Rad D10 的对比试验达可接受范围。见图 3。

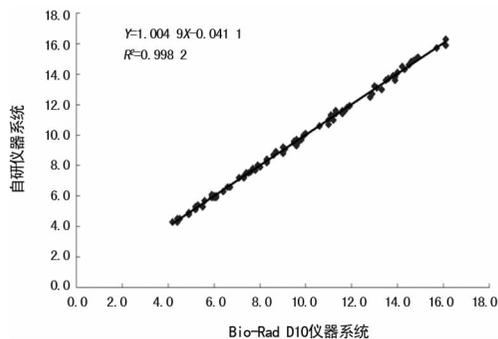


图 3 2 种仪器检测 HbA1c 结果的相关性

2.8 参考值范围 自研仪器检测 104 例健康体检者,HbA1c 平均值为 5.3%(95%CI:4.7%~6.3%),检测范围 3%~18%。健康体检者以每 10 岁为年龄段分为 5 组,即 20~29 岁、30~39 岁、40~49 岁、50~59 岁、60~69 岁,各组 HbA1c 平均值分别为 5.1%、5.2%、5.3%、5.4%、5.4%。见表 5。

表 5 自研仪器检测健康体检者的 HbA1c 值

年龄(岁)	例数(n)	$\bar{x} \pm s$	95%CI
20~29	22	5.1 ± 0.13	4.8~5.3
30~39	21	5.2 ± 0.22	4.9~5.6
40~49	22	5.3 ± 0.27	4.9~5.7
50~59	19	5.4 ± 0.33	5.0~6.2
60~69	20	5.4 ± 0.53	4.9~6.3
合计	104	5.3 ± 0.36	4.7~6.3

2.9 干扰试验 分别在全血标本中添加不同浓度的果糖胺、葡萄糖、维生素 C、总胆红素、HbF、三酰甘油进行检测,各干扰物对 HbA1c 的变异系数分别为:果糖胺小于或等于 1.60%、葡萄糖小于或等于 0.90%、维生素 C 小于或等于 0.40%、总胆红素小于或等于 1.50%、HbF 小于或等于 1.80%、三酰甘油小于或等于 1.10%。见表 6。

表 6 不同干扰物对 HbA1c 检测的结果(±s 或%)

标本类别	果糖胺	CV(%)	葡萄糖	CV(%)	维生素 C	CV(%)	总胆红素	CV(%)	HbF	CV(%)	三酰甘油	CV(%)
1	6.0±0.09	1.55	5.7±0.05	0.89	5.8±0.03	0.31	6.1±0.07	1.24	6.4±0.12	1.78	6.2±0.10	1.07
2	5.4±0.08	1.48	5.5±0.03	0.64	5.4±0.05	0.28	5.8±0.10	1.03	5.9±0.09	1.32	5.9±0.09	0.94
3	5.2±0.06	1.22	5.1±0.02	0.33	5.2±0.02	0.22	5.3±0.06	0.94	5.2±0.06	0.94	5.3±0.03	0.73

3 讨 论

自研糖化血红蛋白床旁检测分析仪采用显色型亲和层析法,检测总 HbA1c 和总的非 HbA1c,经过系统校正后获得 HbA1c 检测结果,不受血红蛋白变异体影响^[6]。该方法是目前检测 HbA1c 的常用方法之一,曾经应用于美国糖尿病控制与并发症研究^[7]。

本研究根据《糖化血红蛋白实验室检测指南》、美国临床和实验室标准协会(CLSI)、美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)颁布的部分文件,对自研 HbA1c 床旁检测系统进行性能评估^[2,5,8-10]。

本研究结果显示,自研仪器检测 HbA1c 的高值、中值、低值偏差与总不精密度均在允许范围,多元回归分析中斜率、非线性、漂移差异均无统计学意义($P>0.05$),表明该仪器检测 HbA1c 的精密度和准确度良好,而截距差异有统计学意义($P<0.01$),表明与靶值有恒定误差($t>4.6, P<0.01$)。精密度试验显示自研仪器检测 HbA1c 批内与批间不精密度均可接受(均 $CV<1.50\%$),重复性较好,结果稳定。相关性试验证实 2 种仪器检测 HbA1c 的结果显著相关($R^2=0.9982, P<0.01$),预期偏倚 0.06,相对偏倚 0.83%,偏差符合率 100%,处于可接受范围。果糖胺、葡萄糖、维生素 C、总胆红素、HbF、三酰甘油等常见干扰物对检测结果影响小(均 $CV<1.80\%$)。HbA1c 水平主要与血糖相关,但也受年龄、性别、药物、异常血红蛋白、贫血、红细胞增多等因素的影响^[11]。该仪器参考值范围验证在选取健康体检者时也考虑上述影响因素,HbA1c 参考值范围为 4.7%~6.3%。

综上所述,自研糖化血红蛋白床旁检测分析仪检测 HbA1c 的线性、准确度、精密度等各项指标性能均符合临床要求。同时该仪器操作方便、准确度高、重复性好,且每例标本可独立操作,不产生携带污染,适合于急诊及床旁检测。

参考文献

[1] 于秀娟,欧超伟.糖化血红蛋白检测的影响因素及临床意

义[J].中国老年学杂志,2013,33(19):4930-4933.

[2] 卫生部临床检验中心,北京市医疗器械检验所,北京大学人民医院.糖化血红蛋白实验室检测指南[J].中国糖尿病杂志,2013,21(8):673-678.

[3] ADA. Executive summary: Standards of medical care in diabetes—2013[J]. Diabetes Care, 2013, 36(Suppl 1): S4-S10.

[4] 李新华,赵珂,魏芳,等.显色型亲和层析法检测糖化血红蛋白的建立及性能评估[J].中国糖尿病杂志,2016,24(10):882-886.

[5] National Committee for Laboratory Standards. Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods: EP10-A[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 1998.

[6] 宋智心,徐国宾,马怀安,等.糖化血红蛋白测定的标准化现状[J].中华检验医学杂志,2012,35(6):497-500.

[7] JOHN W G. Haemoglobin a(1c): analysis and standardisation[J]. Clin Chem Lab Med, 2003, 41(9): 1199-1212.

[8] National Committee for Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition; EP5-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLSI, 2004.

[9] National Committee for Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline-second edition; EP9-A2[S]. Wayne, PA, USA, NCCLSI, 2002.

[10] National Committee for Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach; approved guideline: EP6-A [S]. Wayne, PA, USA: NCCLSI, 2003.

[11] 费小蕾,蒋伏松,陆志强.糖化血红蛋白的基础与临床应用[J/CD].中华临床医师杂志(电子版),2012,6(19): 5966-5969.

(收稿日期:2017-11-05 修回日期:2018-01-13)