

高效液相色谱法与酶法检测糖化血红蛋白结果一致性的比较

孙虹, 苏敏, 把丽美, 周超

(云南省第一人民医院, 昆明理工大学附属昆华医院检验科, 云南省临床检验中心, 云南昆明 650032)

[关键词] 糖化血红蛋白; 离子交换高效液相色谱法; 酶法

[中图分类号] R446.6 [文献标识码] A [文章编号] 2095-610X (2014) 01-0116-02

近年来, 随着人们生活水平的提高糖尿病的发病率越来越高, 预计到 2025 年全世界糖尿病患者将达 3 亿人^[1]。糖化血红蛋白 (HbA1c) 是血红蛋白与糖类经非酶促反应结合而成的, 其合成过程缓慢且相对不可逆。因此可反映机体 1~2 月前的平均血糖水平, 在糖尿病的监测、治疗方面具有重要意义。2002 年美国糖尿病协会 (ADA) 将其作为监测糖尿病血糖控制的金标准, 2010 年 ADA 发布的糖尿病诊疗指南中以 HbA1c $\geq 6.5\%$ 作为糖尿病的诊断标准^[2]。目前 HbA1c 主要的测定方法有离子交换高效液相色谱法 (HPLC)、免疫法及近年新发展的 - 酶法。为了解酶法与 HPLC 法 HbA1c 测定结果的一致性, 笔者依据美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 《用患者样本进行方法学对比及偏差估计 EP9-A2 指南文件》 (EP9-A2), 对 HPLC 和酶法两种 HbA1c 检测结果进行了对比分析和偏倚评估, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

美国伯乐 (Bio-Rad) D-10 HbA1c 分析仪 (HPLC 法) 及配套试剂和专用校准品 (美国 NGSP 参考系统); 美国雅培 CI-16200 全自动生化分析仪/日本积水医疗株式会社酶法 HbA1c 试剂盒 (简称酶法) 及校准品 (日本临床检查标准协会认证品)。

1.2 样本

连续 5 d 每天收集云南省第一人民医院门诊及住院糖尿病患者新鲜肝素抗凝血液样本 8 份 (共 40 份), HbA1c 浓度选择范围为符合 EP9-A2 文件数据分布要求, 所有样本采集后 4 h 内进行检测。

1.3 方法

以伯乐 D-10 HbA1c 分析仪为比对方法 (X), 酶法为实验方法 (Y); 检测前对仪器进行校准, 每天测定 2 个浓度的质控品结果在控。按照 EP9-A2 文件的要求, 在 5 个工作日内每天选取 8 份患者样本, 分别用二种方法按 1 \rightarrow 8, 8 \rightarrow 1 的顺序重复测定 HbA1c, 共检测 40 份标本, 记录测定结果。

1.4 统计学处理

按照 NCCLS EP9-A2 要求在 EXCEL2000 上编制程序进行分析, 将 40 份标本测定的结果 (X_{ij}, Y_{ij}) 输入 X、Y 列, 检查方法内及方法间离群值; 以比对方法 HbA1c 双份测定结果的均值为 X 轴; 以实验方法 HbA1c 双份测定结果的均值为 Y 轴画出散点图; 估算包含医学决定水平在内 3 个浓度的预期偏倚。

2 结果

2 方法 40 份样本 HbA1c 的检测结果见表 1, HPLC 法采用 NGSP 单位; 酶法 HbA1c% = $93.6 \times \text{HbA1c (mg/md)} / \text{Hb (mg/md)} + 2.85$ (日本糖尿病学会糖化血红蛋白标准化 HbA1c 值)。

2 方法 HbA1c 双份测定结果的散点图见图 1, 其直线回归方程 $Y=1.022X-0.8054$, 相关系数 $r=0.993 > 0.975$, 配对 t 检验, X 与 Y 的 $t=-3.157$, $P > 0.05$, 2 者无明显统计学差异, 酶法与 HPLC 法结果具有显著相关性。

HbA1c 在医学决定水平 (6.5%) 的预期偏倚见表 2。根据上述回归方程对 2 种检测方法测得 HbA1c 的结果进行预期偏倚的估计, 允许偏倚采用卫生部临床检验中心 HbA1c 室间评价标准靶值 $\pm 20\%$ 的 1/2 即 10%。

[作者简介] 孙虹 (1963~), 女, 云南昆明市人, 医学学士, 主任医师, 主要从事临床生物化学、免疫学检验及实验室质量管理工作。

[通讯作者] 苏敏. E-mail:su984@hotmail.com

表 1 2 种方法 40 份样本 HbA1c 的检测结果 (%)

样本号	实验方法 (酶法)			比对方法 (HPLC)		
	结果 1	结果 2	平均值	结果 1	结果 2	平均值
1	6.75	6.69	6.72	7.70	7.70	7.70
2	8.14	8.11	8.13	9.10	9.20	9.15
3	5.98	6.04	6.01	6.4	6.6	6.5
4	14.10	14.06	14.08	14.40	14.2	14.15
...
...
39	11.29	11.31	11.30	11.60	11.60	11.60
40	9.17	9.36	9.27	9.60	9.60	9.60

表 2 2 种检测方法测得 HbA1c 结果的预期偏倚和相对偏倚估计

HbA1c 浓度 (%)	允许偏倚 (%)	预期偏倚	相对预期偏倚 (%)	预期偏倚 95%可信限		预期值	预期值 95%可信限	
				下限	上限		下限	上限
4.0	0.40	-0.72	-17.94	-0.86	-0.58	3.29	3.14	3.42
6.5	0.65	-0.66	-10.19	-0.75	-0.59	5.84	5.75	5.92
10.0	1.00	-0.58	-5.85	-0.65	-0.52	9.41	9.35	9.48

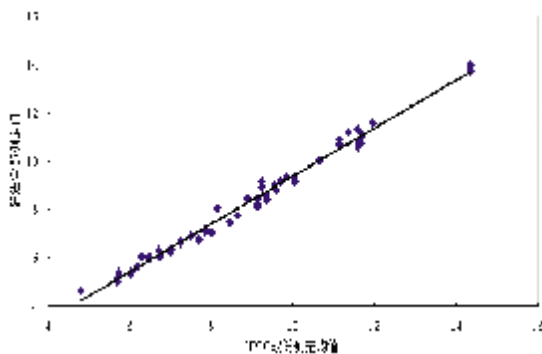


图 1 2 方法 HbA1c 双份测定结果散点图

当 HbA1c 浓度由 4.0% 增加到 10.0% 时, 负偏倚从 17.94% 降低到 5.85%。若采用卫生部临检中心 HbA1c 室间质评标准靶值 $\pm 20\%$ 的 1/2 为可接受偏倚, HbA1c 浓度为 4.0%、6.5% 和 10.0% 时, 其预期偏倚绝对值和相对百分偏倚分别为 -0.72 (-17.94%)、-0.66 (-10.19%) 和 -0.58 (-5.85%), 3 者均在预期偏倚 95% 的可信区间内; 预期值也在预期值 95% 的可信区间内。因此, 即便 HbA1c 酶法测定结果与 HDLC 法存在一个明显负偏倚, 但 2 方法测定结果之间的预期偏倚可以被临床接受; 与 HPLC 法有很好的相关性, 可以为临床提供一个具有可比性更精确的 HbA1c 结果, 且不需要昂贵、专用的仪器^[4]。

3 讨论

伯乐 D-10 血红蛋白分析仪采用 HPLC 法测定 HbA1c, 操作方便, 仪器自动吸样进行稀释, 受手工操作影响较少, 精密度、准确度较高, 已通过美国国家糖化血红蛋白标准化计划 (NGSP) 的认证, 被指定为参考方法, 其量值可溯源至糖尿病控制和并发症试验 (DCCT) 实验室^[1]。酶法测定 HbA1c 是 GHb 测定的一个突破, 它提供了一个像生化反应一样快速、均一的反应系统, 有很好的精密度, 变异系数可以为 1%。本研究显示, 酶法与 HPLC 法直线回归方程的斜率为 1.022 非常接近 1, 2 方法间的比例误差很小; 截距为 -0.8054, 酶法测定结果明显低于 HDLC 法结果, 2 者之间存在一个较大的负偏倚; 而且 HbA1c 浓度越低、负偏倚越大;

[参考文献]

- [1] KING H, RONALD E, AUBERT, et al. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projection[J]. Diabetes Care, 1998, 21(9): 1414-1431.
- [2] American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2010 [J]. Diabetes Care, 2010, 33 (1): s11 - S61.
- [3] 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]. 中华医学检验杂志, 2008, 31(19): 965 - 968.
- [4] 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]. 中华医学检验杂志, 2008, 31(9): 965 - 968.

(2013-11-19 收稿)