

硼酸亲和层析法检测糖化血红蛋白 A1c(GHbA1c)的临床效果评估

张国军 康熙雄 刘志伟 侯丽贤 李萍燕 卜颖 陈彤岩 杨薇 王毅娟 杜洪涛
首都医科大学附属北京天坛医院实验诊断中心,北京,100050

摘要 目的 评估硼酸亲和层析法(A法)检测 GHbA1c 的临床效果。方法 利用高效液相色谱法(HPLC(B法))检测 118 例全血 GHbA1c 水平,A法同步盲测。计算二者的相关系数、灵敏度、特异性和总符合率,同时对溶血、黄疸等可能的干扰因素进行评估。结果 两种方法的灵敏度、特异性和总符合率分别为 100%、92.3%和 97.1%,相关系数 r 为 0.980,表明两种方法的检测结果具有较高的一致性和等效性。结论 硼酸亲和层析法检测 GHbA1c 具有结果准确,用血量少,检测时间短,随机检测,单标本独立检测,适合急诊、基层医疗机构、糖尿病患者病情和治疗效果的个人监测,具有很高的临床实用前景。

关键词 硼酸亲和层析;高效液相色谱;糖化血红蛋白

全世界约有 5% 的人群有糖尿病。糖尿病的治疗需要血糖长期维持在尽可能接近正常的水平,以减少发生血管并发症的风险。单纯空腹血糖测定仅能反应患者近期的血糖状况(以小时计),但并不能全面反应血糖调控的真实情况。HbA1c 的水平与平均血糖浓度及血循环中的红细胞生存时间相关,因此 HbA1c 可以反映患者两到三个月的平均血糖水平,是糖尿病患者诊断、治疗和疗效监控最为有效的指标。测定 HbA1c 的方法包括电泳法,免疫法和色谱法。本文应用硼酸亲和层析法检测 HbA1c,并评估其在 HbA1c 检测中的应用价值。

材料与方 法

1. 材料

1.1 标本来源 2008 年 4 月~5 月首都医科大学附属北京天坛医院神经内科、心血管内科、内分泌科的住院病人 118 例,其中女 43 例,男 67 例,年龄 17~90 岁,平均 56.08 岁。所有样本均为 EDTA 抗凝全血。样本保存:在 2-8℃ 条件下可以保存 4 天。其中病例组 66 例(55.8%);全部为临床确诊糖尿病患者样本;对照组 52 例(44.2%);全部为临床确诊非糖尿病患者或正常人的样本。

1.2 试剂和仪器 硼酸亲和层析法(A法)检测全血 HbA1c 所用仪器和试剂由美国伯乐公司生产;高效液相色谱法(B法)检测全血 HbA1c 水平所用仪器和试剂为美国伯乐公司生产的 D-10 糖化血红蛋白检测仪及配套试剂。第三方检测仪器和试剂为美国伯乐公司生产的 VARIANT 糖化血红蛋白

分析仪(C法)及配套试剂。

2. 方法

2.1 样本随机搁置,统一编盲。同步接受 A 法和 B 法检测,记录检测结果。

2.2 检测过程中,为了避免人为试验误差。在解盲后,如果 A 法和 B 法检测结果不一致,则在测定样本仍然有效保存的情况下,要求 A 法和 B 法检测分别重新测定。结果不一致的样本由 C 法测定。

2.3 评价方法 以 B 法检测结果作为参照,计算 A 法的灵敏度、特异性、总符合率及相关系数。糖化血红蛋白 A1c 含量低于 6% 属于非糖尿病水平,将 B 法测定糖化血红蛋白 A1c 含量大于等于 6 定为阳性样本,小于 6 定位阴性样本。

(1)灵敏度:试验检出阳性的样本占对比试剂检出阳性样本总数的比例。灵敏度 = $A/(A+C) \times 100\%$

(2)特异度:试验检出阴性的样本占对比试剂检出阴性样本总数的比例。特异度 = $D/(B+D) \times 100\%$

(3)总符合率:临床检出结果一致的样本占总样本的比例,即总符合率。总符合率 = $(A+D)/(A+B+C+D)$

试验结果 \ 对比试剂	对比试剂		
	阳性	阴性	合计
阳性	A	B	A+B
阴性	C	D	C+D
总数	A+C	B+D	A+B+C+D

(4)相关系数(R):采用 SPSS11.0 软件进行统计。

结果

1. 根据表 1 结果,计算 A 法和 B 法的灵敏度、特异性和总符合率

表 1 A 法和 B 法检测结果

亲和层析试剂	D-10 试剂		合计
	阳性	阴性	
阳性	66	5	71
阴性	0	47	47
总数	66	52	118

灵敏度 = $66 / (66 + 0) \times 100\% = 100\%$;

特异度 = $47 / (47 + 5) \times 100\% = 90.4\%$;

总符合率 = $(66 + 47) / (66 + 5 + 0 + 47) = 95.8\%$ 。

2. 相关系数(R) 图 1

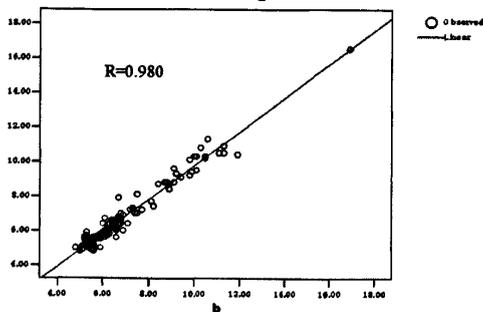


图 1 A 法 B 法检测相关性比较

3. 结果分析

3.1 B 法检测 14 号、30 号、75 号、90 号和 112 号样本的结果分别为 5.7%、5.9%、5.6%、5.6% 和 5.9%,属于阴性结果,而 A 法检测结果分别为 6.0%、6.0%、6.1%、6.6% 和 6.2%,均为阳性结果。复测后,B 法检测 14 号、30 号、75 号、90 号和 112 号样本的复测结果分别为 5.8%、5.8%、5.8%、5.8% 和 5.9%,而 A 法检测结果分别为 6.0%、6.1%、6.0%、6.4% 和 6.3%,仍均为阳性。

3.2 采用 C 法进行验证 14 号、30 号、75 号、90 号和 112 号样本结果分别为 5.8%、6.1%、5.8%、6.1%、5.9%。参考 C 法的检测结果,A 法检测 30 号和 90 号的结果与 C 法判定结果一致,因此判定:A 法测定 14 号、75 号和 112 号的判定结果为假阳性。见表 2。

表 2 A 法测定假阳性结果的确定

	14 号	30 号	75 号	90 号	112 号
A 法	6.0%	6.0%	6.1%	6.6%	6.2%
B 法	5.7%	5.9%	5.6%	5.6%	5.9%
C 法	5.8%	6.1%	5.8%	6.1%	5.9%

注:粗体字为假阳性

3.3 A 法和 B 法均属于糖化血红蛋白 A1c 的定量检测试剂,其检测结果用于辅助临床糖尿病病人的诊断。两种试剂对 14 号、30 号、75 号、90 号和 112 号受试者全血样本的检测数值范围是 5.6%~6.6%,属于设定 6% 阈值的灰区,判定结果的差异基本在两种试剂自身检测的偏差范围内。同时,检测结果应不会影响到临床病人的诊断。3.4 检测样本中含 3 份高脂(甘油三酯的含量超过 15mg/ml)和 2 份高胆红素(胆红素的含量超过 650 μ mmol/L)干扰样本,未发现对结果产生影响。

结论

硼酸亲和层析法检测糖化血红蛋白 A1c,应用成熟的硼酸亲和层析法,将糖化的片段从非糖化的片段中分离出来进行检测。每一次检测所需标本为 60 微升,检测时间为 6 分钟,仪器体积小,操作简单,干扰因素少,与临床常用方法比较具有良好的相关性、灵敏度和特异性,是一款非常适于急诊、社区和家庭使用的糖尿病诊断、病情检测的糖化血红蛋白 A1c 检测的 POCT 产品,具有相当的临床应用前景。

参考文献

- [1] 王广杰,蒋平儿,龚爱娟.免疫透射比浊法测定 HbA1C 的方法评价[J].全科医学临床与教育,2006,(01).
- [2] Nangfuchi S, Akazawa K, Yokogawa Y, et al. The impact of a color classified HbA1c graph for self adjustment of long glyce-mic control. Diabetes Care, 1993,169, 16(9):1408-1409.
- [3] John WG. Glycated hemoglobin analysis. Ann Clin Biochem, 1997,34, 34:17-31.
- [4] 梁劲松,李生.化学发光法检测糖化血红蛋白的实验评价[J].江西医学检验,2003,(06).
- [5] 张长礼.免疫凝集法测定糖化血红蛋白[J].安徽卫生职业技术学院学报,2008,(05).
- [6] Frank Q. Effect of age on the percentage of hemoglobin A1c and the percentage of total glycohemoglobin in non-diabetic persons. J Lab Clin Med, 1999,134, 134:451-453.