

3 讨 论

本研究依据 Willemse 等^[2]的方法建立了抗体检测外周血 FMRP 进行 FXS 快速诊断的方法,其依据是正常淋巴细胞均有 FMRP 表达,而 FXS 患者 FMRP 表达缺陷的现象,通过计数外周血中 FMRP 有表达的淋巴细胞数,把淋巴细胞 FMRP 表达的男性全突变患者诊断界定点定为 42%,低于该比率就认为可能患 FXS^[3],也有报道将其界定点设为 50%^[4]。有研究表明,男性完全突变患者外周血淋巴细胞 FMRP 表达率多在 10% 以下,而健康男性其表达率可达 80% 以上,两者表达率无重叠从而容易区分^[3-4]。但由于女性的 1 条染色体失活(Lyon 化),具有全突变的女性患者(尤其成年女性)其淋巴细胞的正常染色体有优先表达的倾向,大多数的淋巴细胞 FMRP 呈阳性,有高度假阳性的危险。本研究对 20 份健康者样本进行 FMRP 免疫细胞化学染色,其 FMRP 阳性淋巴细胞率为 82%~96%,和 Willemse 等的报道相近^[2,5-6]。本研究通过间接免疫荧光染色方法观察外周血涂片淋巴细胞中 FMRP 的表达情况,免疫荧光技术具有特异性强、灵敏度高的特点,并可确定 FMRP 在淋巴细胞中的准确定位。结果显示,FMRP 表达与细胞免疫组化一致,在淋巴细胞胞浆中呈均一绿色荧光。但由于荧光标本不能长期保存以及需要荧光显微镜才能观察。因此,免疫细胞化学方法更适用于男性 FXS 患者的常规筛查。

FXS 临床表现各异、复杂多样,单从临床特征无法进行早期诊断,诊断更多的依赖于实验室检查^[7-10]。而外周血淋巴细胞 FMRP 免疫细胞化学方法,具有简便快速等特点,虽然在诊断女性患者还存在很大的局限性,但利用该方法进行 FXS 的初步筛查,同时结合特异性 PCR 分析方法则可形成较为完善的 FXS 的实验室诊断体系。

参考文献

[1] Jin P, Warren ST. Understanding the molecular basis of fragile X

• 检验技术与方法 •

高效液相色谱法检测 HbA1c 未检出结果的原因分析

刘世文,崔海丽,侯云修

(滨州医学院附属医院中心实验室,山东滨州 256603)

摘要:目的 探讨 HA-8160 高效液相色谱仪在全血模式下糖化血红蛋白(HbA1c)结果未能检出的原因及解决办法。方法 首先检测 38 例全血模式下 HbA1c 未能检出结果样本的 Hb 浓度和红细胞沉降率(ESR),然后检测 8 例 ESR 正常 Hb 浓度不同样本的 HbA1c,低速离心,弃去不同量血浆后再测定 HbA1c,最后检测 10 例 Hb 浓度大于 65 g/L 伴有 ESR 明显增高样本的 HbA1c。结果 ESR 正常样本,能测出结果所需最低 Hb 浓度为 65 g/L;轻度贫血伴有 ESR 明显增高的样本即使 Hb 浓度大于 65 g/L 也不能检出结果。未能检出结果的样本弃去部分血浆后可测出结果,弃去不同量血浆后其结果间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 HA-8160 高效液相色谱仪测定 HbA1c 能否检出结果与 Hb 浓度及 ESR 有关系,与 HbA1c 百分含量无关。未能检出结果的样本,低速离心弃去部分血浆后即可测出结果。Hb 浓度正常的样本不受 ESR 影响均能检出结果。

关键词:糖化血红蛋白; 色谱法,高效液相; 血红蛋白; 血沉

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)20-2528-03

糖化血红蛋白(HbA1c)能反映长期血糖水平,是监测糖尿病治疗的重要指标^[1-5]。高效液相色谱法具有全自动、快速、高效、特异性强及精密度高的特点,是目前公认检测 HbA1c 的金标准^[6-7]。HA-8160 高效液相色谱仪是由日本生产的 HbA1c 检测仪器,工作中发现在全血模式下一些样本未能测出结果,为探究其原因及解决办法做了以下研究。

syndrome[J]. Hum Mol Genet, 2000, 9(6): 901-908.

- [2] Willemse R, Mohkamsing S, De Vries B, et al. Rapid antibody test for fragile X syndrome[J]. Lancet, 1995, 345(8958): 1147-1148.
- [3] Willemse R, Smits A, Mohkamsing S, et al. Rapid antibody test for diagnosing fragile X syndrome: a validation of the technique [J]. Hum Genet, 1997, 99(3): 308-311.
- [4] Tassone F, Hagerman RJ, Ikle Dn, et al. FMRP expression as a potential prognostic indicator in fragile X syndrome[J]. Am J Med Genet, 1999, 84(3): 250.
- [5] Romero-Espinoza P, Rosales-Reynoso MA, Willemse R, et al. FMR1 protein expression in blood smears for fragile X syndrome diagnosis in a Mexican population sample[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2010, 14(4): 511-514.
- [6] Ravindran MS, Patel ZM, Adhia RA, et al. Validity of analysis of FMRP expression in blood smears as a screening test for Fragile X Syndrome in the Indian population[J]. J Clin Lab Anal, 2005, 19(3): 120-123.
- [7] 李长民,刘巍,谭文华.家族遗传性疾病-脆性 X 综合征的筛查及产前诊断[J].中国优生与遗传杂志,2007,15(5):53-54.
- [8] 杨建一,白爱萍.脆性 X 综合征的诊断方法[J].医学综述,1999,5(12):537-539.
- [9] 富显果,张朵,兰风华.脆性 X 综合征实验室诊断研究进展[J].福建医科大学学报,2008,42(4):384-386.
- [10] 徐学刚,刘睿智.脆性 X 综合征及其实验室检测研究进展[J].中国妇幼保健,2008,23(35):5083-5086.

(收稿日期:2012-01-09)

1 材料与方法

1.1 标本来源 来自本院住院及门诊患者的全血标本。

1.2 仪器与试剂 HA-8160 高效液相色谱仪(日本),试剂 ARKRAY 株式会社(日本);Sysmex SF-3000 全自动五分类血球计数仪(日本),试剂 Sysmex 生产;全自动血沉仪 ALIFAX Test1(意大利);微量移液器(eppendorf 股份公司德国);ED-

TA-Na₂ 抗凝管(山东奥赛特公司)。

1.3 方法

1.3.1 静脉采血约 2.2 mL 于 EDTA-Na₂ 抗凝管中, 混匀。

1.3.2 在全血模式下检测 38 例未检出 HbA1c 结果样本的红细胞沉降率(ESR)及 Hb。

1.3.3 在全血模式下检测 8 例 ESR 正常(小于 20 mm/h)而 Hb 浓度不同样本的 HbA1c, 1 000 r/min, 离心 3 min, 分别弃去 0.2、0.5、0.8 mL 血浆后再检测, 每样本检测 3 次, 取平均值。

1.3.4 在全血模式下检测 10 例 ESR 明显增高、Hb>65 g/L 样本的 HbA1c, 低速离心, 贫血样本先后弃去 0.2、0.5 mL, 无贫血样本弃 0.2 mL 血浆后再测定。每样本检测 3 次, 取平均值。

1.4 统计学处理 组间采用配对 t 检验, $P<0.05$, 差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 全血模式下 38 例未检出 HbA1c 结果样本的 ESR 及 Hb Hb 平均浓度 57.8 g/L, 最大值 88 g/L, ESR 最高 112 mm/h, 平均 28.8 mm/h, 其中 Hb>65 g/L 者 4 例, ESR 平均 82.75 mm/h。

2.2 全血模式下 8 例 ESR 正常而 Hb 浓度不同样本的 HbA1c 测定 ESR 正常样本, 能测出结果所需最低 Hb 浓度为 65 g/L。Hb 浓度低于 65 g/L 未能检出 HbA1c 结果样本, 根据贫血程度不同弃去不同量血浆后即能测出结果, 同一样品累计所弃不同量血浆其测得结果间差异无统计学意义(P 均 >0.05), 见表 1。

表 1 ESR 正常 Hb 浓度不同的样本弃去不同量血浆后 HbA1c(%)结果

	48 g/L	50 g/L	55 g/L	62 g/L	65 g/L	70 g/L	85 g/L	90 g/L
全血	×	×	×	×	5.8	6.2	5.7	9.36
弃 0.2 mL	×	×	×	8.2	5.76	6.2	5.76	9.36
弃 0.5 mL	×	7.63	4.8	8.23	5.83	6.16	—	—
弃 0.8	6.7	7.6	4.8	8.23	5.76	6.16	—	—

×: 未能检出结果; —: 为防止 Hb 浓度过高对层析柱造成影响而未进一步弃血浆浓缩。

2.3 全血模式下 10 例 Hb 浓度大于 65 g/L 且伴有 ESR 明显增高的贫血样本的 HbA1c 测定 轻度贫血伴有 ESR 明显增高的样本即使 Hb 浓度大于 65 g/L 也不能检出结果。未能检出结果的样本弃去部分血浆后可测出结果, 同一样品弃不同量血浆的测定结果间差异无统计学意义(P 均 >0.05)。Hb 浓度正常样本都能检出结果, 与 ESR 无关。结果见表 2。

表 2 Hb 浓度大于 65 g/L 伴 ESR 增高组($n=10$)

HbA1c(%)结果

编号	Hb	ESR	全血	弃 0.2 mL 血浆	弃 0.5 mL 血浆
1	76	86	×	5.16	5.2
2	67	112	×	6.8	6.76
3	88	72	×	8.4	8.36
4	86	61	×	7.3	7.3
5	86	112	×	10	9.93
6	127	96	6.3	6.3	—
7	146	94	9.8	9.8	—
8	125	120	5.86	5.86	—
9	105	102	11.7	11.66	—
10	130	63	9.3	9.3	—

×: 在全血模式下 HbA1c 未能检出结果; —: 防止 Hb 浓度过高对层析柱造成影响而未进一步弃血浆浓缩。

3 讨 论

HA-8160 高效液相色谱仪在全血模式下能否检出 HbA1c 结果主要受 Hb 浓度和 ESR 的影响, ESR 正常样本, 据抽取全血量、样本消耗量、Hb 浓度、所弃血浆量计算所需最低 Hb 浓度约为 63~65 g/L, 由于采血器精度、Hb 检测误差等方面的影响, 此为大致范围。当 ESR 增高时, Hb 浓度高于 65 g/L 的贫血样本也不能检出结果; Hb 浓度正常样本都能检出结果,

不受 ESR 的影响。

在全血模式下仪器定量吸取全血, 自动溶血后泵入层析柱将各组分分离。未能检出结果样本原因是 Hb 浓度低, 溶血后各组分经层析柱分离其峰面积太小, 信号太弱, 仪器不能分析出结果。当弃去一定量血浆后 Hb 浓度增加, 达到仪器最低检出量, 即可测定出结果, 应弃血浆量与贫血严重程度有关。

HbA1c 结果是其峰面积占各组分峰总面积的比值, Hb 一旦到达最低检出浓度后 HbA1c 结果与所弃血浆量没有关系, 但是 Hb 浓度不宜过高, 否则进入层析柱的 Hb 浓度过高, 缩短层析柱的使用寿命^[8]。

HA-8160 HbA1c 分析仪可自动吸样, 但吸样前需手工混匀, 每个样本测定需一定时间, 样本越多从手工混匀到检测时间间隔越长, 此时 ESR 高的样本红细胞下沉, 由于探针高度固定, 实际吸到红细胞的量降低, 以至于 Hb 浓度高于 65 g/L 的贫血样本也检测不出结果。贫血越严重, ESR 越高, 受的影响越大。38 例未检出结果样本中有 4 例 Hb>65 g/L, 都伴有 ESR 明显增高。若从手工混匀到检测的时间间隔短, 部分中度贫血伴有 ESR 增高的样本也能检出结果。Hb 浓度正常样本不受 ESR 增高的影响, 相对贫血伴 ESR 增高样本, 最终红细胞所占的比积大于贫血样本, 吸取红细胞的量能达到最低所需 Hb 浓度。

未能检测出结果的样本简便的解决办法就是低速离心后弃去部分血浆调节 Hb 浓度至正常水平。这样既可保证所需最低 Hb 浓度又不致使溶血后血红蛋白浓度过高对层析柱产生影响。

参 考 文 献

- [1] Gale EA. Glucose control in the UKPDS: what did we learn? [J]. Diabet Med, 2008, 25(Suppl 2): 9-12.
- [2] 周翔海, 纪立农. 空腹血糖和糖化血红蛋白用于筛查糖尿病的研究[J]. 中华糖尿病杂志, 2005, 13(3): 203-205.

- [3] 周健,喻明,马晓静,等.2型糖尿病全天血糖水平与糖化血红蛋白
血糖漂移幅度的相关性分析[J].中国实用内科杂志,2006,26
(10):763-766.
- [4] 薛声能,程桦.糖化血红蛋白的研究进展[J].国外医学:内科学分册,2008,35(10):586-588.
- [5] 瞿良,王惠萱,朱玉琨,等.糖化血红蛋白检测的循证检验医学观
点[J].国际检验医学杂志,2005,26(10):718-721.
- [6] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:

• 检验技术与方法 •

免疫透射比浊法与免疫散射比浊法检测特定蛋白的比较

张倩,周敬静,徐华

(昆明市儿童医院检验科,云南昆明 650034)

摘要:目的 对免疫透射比浊法与免疫散射比浊法两种方法检测特定蛋白进行比较。方法 应用 Olympus-AU2700 全自动生化分析仪与 DadeBehring BNProspec 特定蛋白仪对 IgG、IgM、IgA、C₃ 和 C₄ 5 种血清蛋白进行初步的方法学比较。结果 免疫透射比浊法与免疫散射比浊法的批内精密度均较好,CV<3.3%。免疫透射比浊法与免疫散射比浊法在医学决定水平浓度从低检测范围到高检测范围,均有良好的线性回归,相关系数分别为:0.96、0.96、0.90、0.98、0.84。结论 免疫透射比浊法具有较好的精密度及较宽的检测范围,与免疫散射比浊法相关性良好,且透射比浊法成本低,收费低,便于基层及常规实验室开展。

关键词:免疫透射比浊法; 免疫散射比浊法; 免疫球蛋白; 补体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)20-2530-02

目前,免疫透射比浊法与免疫散射比浊法是检测血清中特定蛋白常用的两种方法,散射比浊法长久以来被认为是测定血清蛋白的最佳方法,既灵敏准确度又高。虽然散射比浊仪器已经开始普及,但许多基层医疗机构仍然没有此检测条件。为了能很好地开展血清特定蛋白的检测,研究者应用 DadeBehring BNProspec 特定蛋白仪与 Olympus-AU2700 全自动生化分析仪对 IgG、IgM、IgA、补体 C₃ 和补体 C₄ 5 种血清蛋白进行初步的方法学比较,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 来源于昆明市儿童医院门诊及住院患者无溶血、脂血及黄疸新鲜血清标本 52 例(含高、中、低值)。

1.2 仪器与试剂 DadeBehring BNProspec 特定蛋白仪,Olympus-AU2700 全自动生化分析仪。DadeBehring 特定蛋白仪试剂、校准品和质控为原装配套试剂。Olympus-AU2700 全自动生化分析仪试剂为上海科美东雅公司试剂及校准品。

1.3 方法 定标后,采用各自的高、中、低 3 个水平蛋白质控品在 Olympus-AU2700 分析仪和 Dade Behring BNProspec 特定蛋白分析仪上作室内质控,确保质控结果在允许范围内才能进行下一步的测定。

1.4 统计学处理 使用 SPSS13.0 统计软件包进行数据处理。计算两种方法测定结果均值及两种方法间的差值,以透射比浊法为实验方法(Y),散射比浊法为比较方法(X),按照 EP9-A2 文件对两种方法的测定结果进行方法对比并做回归分析。

2 结果

2.1 两种方法测定结果 两种方法测定特定蛋白结果及相对偏差,见表 1。

2.2 两种方法测定结果离散程度 两种方法测定结果离散程度较小,符合 NCCLS(EP9-A)要求,见图 1。

2.3 两种方法相关性及回归分析 以散射比浊法作为参照方法,透射比浊法为实验方法。对两法方法的测定结果进行相关

东南大学出版社,2006:348.

- [7] 肖飞远,李红,荣秋心.关于糖化血红蛋白检测基础与临床意义的研究进展[J].标记免疫分析与临床,2005,12(2):114-116.
- [8] 朱华,周劲峰,汪子伟.液相色谱法测定 HbA1c 标本的前处理[J].临床检验杂志,2006,24(3):202.

(收稿日期:2012-02-09)

性及回归分析,见表 2。

表 1 透射比浊法(Y)与散射比浊法(X)测定免疫球蛋白参数对照($n=52$,g/L)

项目	Y($\bar{x} \pm s$)	X($\bar{x} \pm s$)	X-Y
IgG	6.75±5.6	7.48±4.3	0.7
IgA	1.29±0.6	1.14±0.6	-0.15
IgM	0.81±0.3	0.62±0.3	-0.2
C ₃	0.86±0.2	0.95±0.3	0.08
C ₄	0.32±0.1	0.24±0.1	-0.09

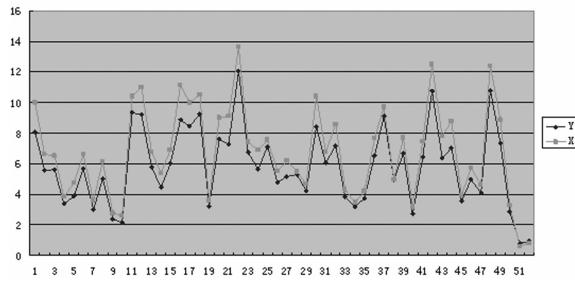


图 1 两种方法测定结果离散程度

表 2 两种方法相关性及回归分析($n=52$)

项目	线性方程	相关系数
IgG	$Y=1.07X-0.12g/L$	0.96
IgA	$Y=0.89X+0.06g/L$	0.96
IgM	$Y=1.08X-0.06g/L$	0.90
C ₃	$Y=0.87X-0.07g/L$	0.98
C ₄	$Y=1.02X-0.05g/L$	0.84

3 讨论

通过该组数据可显示免疫透射比浊法在医学决定水平浓度范围检测特定蛋白与免疫散射比浊法比较具有较好的精密度及较宽的检测范围,与免疫散射比浊法相关性良好。

由于透射比浊法和散射比浊法的检测原理不同。透射比