

• 检验仪器与试剂评价 •

BIO-RAD Variant II TURBO 糖化血红蛋白仪色谱图分析及处理

陈晓婷, 李云飞, 张炳峰, 杨璐

(南京医科大学第一附属医院检验学部, 江苏南京 210029)

摘要: 目的 辨别 HPLC 法糖化血红蛋白仪异常色谱图, 提高糖化血红蛋白检测准确性。方法 异常色谱图有曲线下面积总和过低或过高 [$(1\sim 5) \times 10^6 \text{ uv} \cdot \text{s}$], 基线漂移和滞留时间异常等几种情况, 分析异常图谱产生的原因, 从而采取相应的处理措施。结果 通过异常图谱的原因分析和处理, 避免了错误结果的发出, 提高了糖化血红蛋白检测准确性。结论 对色谱图进行分析和处理, 对 HPLC 法糖化血红蛋白仪结果的准确性至关重要。

关键词: 血红蛋白 A, 糖基化; 色谱法, 高压液相; 色谱法, 离子交换; 色谱图

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.050

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)18-2455-02

BIO-RAD Variant II TURBO 糖化血红蛋白仪应用离子交换高效液相色谱 (HPLC) 法测定人全血糖化血红蛋白 (HbA1c)。该法具有快速、简单、方便的特点, 目前被广泛使用。美国糖化血红蛋白标准化计划 (NGSP) 的参考实验室将其作为常规实验标准参考方法^[1], 该方法也被我国中华医学会糖尿病学分会推荐采用^[2]。HPLC 法也有其局限性, Hb 变异体会随 HbA1c 一起洗脱, 影响 HbA1c 的值; 另外, 该法受温度、pH 值、抗凝剂和柱效的影响较大, 从而使结果产生偏差^[3]。BIO-RAD Variant II TURBO 糖化血红蛋白仪提供检测色谱图, 学会分析色谱图并采取相应的处理措施对检测结果的准确性至关重要。作者单位自 2006 年引进使用 BIO-RAD Variant II TURBO 糖化血红蛋白仪, 在实际使用工作中积累了一些色谱图分析和处理的经验, 以下作简单介绍。

1 检测原理与典型色谱图

1.1 检测原理 离子交换 HPLC 法基于电荷差异进行分析。葡萄糖与血红蛋白的 β 链 N 末端 Val 连接降低了等电点, 导致 HbA1c 带的正电荷比未糖化血红蛋白的少, 与树脂的附着力小。可以分别用不同离子浓度的缓冲液在不同的时间将血红蛋白从阳离子交换柱中洗脱下来, 再根据每个峰值下的面积来计算 HbA1c 占总血红蛋白的比例^[4]。

1.2 典型色谱图 HbA1c 典型色谱图见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

1.3 HbA1c 报告结果可接受标准 结果可接受标准为总面积为 $1\,000\,000\sim 3\,500\,000 \text{ uv} \cdot \text{s}$; 确认 A1c 和 A0 峰出现在正确的窗口处; 评估 Hb 的变异体的情况; 基线平稳、合适; LA1c 峰面积低于 4%; A1c 的含量在线型范围内 (3%~18%); 如果有 Hb F, 其量少于 5%; 确认质控通过; 在 A0 峰前的小的、未知峰是可以接受的; A0 之后的未知峰, 需要进行评估。

2 异常色谱图的分析和处理

2.1 曲线下面积总和过低或过高 正常总血红蛋白浓度对应的总面积在 $1\,000\,000\sim 3\,500\,000 \text{ uv} \cdot \text{s}$ 。对于高浓度的样品 (总面积远远超过 $3\,500\,000 \text{ uv} \cdot \text{s}$), 应进行手工稀释检测。曲线下面积总和过低可能原因: 样本不够、样本中有凝块、患者红细胞压积低、样本管路或注射器中有气泡、稀释池有漏等, 应进行复查, 可使用稀释模式。

2.2 滞留时间异常 原因可能是环境温度过低或过高或分析柱加热器有问题、缓冲液污染或蒸发、缓冲液批号不匹配、柱子和缓冲液批号不匹配、柱子有问题、气泡、加热器有问题、比例阀出错、用错软盘导致试剂信息不匹配等。图 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”) 为温度导致的滞留时间提前,

可修改温度后重新处理标本。

2.3 基线漂移 基线漂移主要见于温度异常和检测器异常等, 见图 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。基线漂移导致 HbA1c 面积计算错误, 结果重复性差, 不可信, 需复查。

2.4 其他异常 色谱图异常还有其他多种如杂峰、小尖峰、平线图形、降解图形等, 主要原因有分析柱时间过长或失效、流路有气泡、试剂加错、流动池或稀释池脏和样本不新鲜等。单个样本出现降解图形见于不新鲜的样本。新鲜样本有微量的 A1a 和 A1b, 正常情况下两者的预期的峰面积应该少于 A1c 峰面积。出现 A1a 和 A1b 峰面积类似或大于 A1c 可能为有降解或变异的 Hb, 尤其是有较大量的 A1b^[5]。

3 讨 论

HbA1c 是目前国际上公认的用于评估糖尿病患者长期血糖状况的金标准^[6-7], 最近又有建议将 HbA1c 作为糖尿病诊断指标^[2,8-9], HbA1c 的检测准确性在糖尿病的诊治中显得尤其重要。如何识别发生偏差的结果, 避免 HbA1c 错误结果的发出, 是目前 HbA1c 质量控制中的重要工作。

经过多年在技术上的不断完善, HPLC 法检测 HbA1c 检测精密度有了明显的提高, 但是非特异性问题仍存在, HbA1c 会受血红蛋白变异体、氨基甲酰化和乙酰化血红蛋白的影响^[4]。再加上温度、pH 值、抗凝剂和柱效的影响, 有时 HbA1c 检测结果会出现较大偏差。糖化血红蛋白仪检测色谱图提供了许多信息, 学会分析这些信息, 发现异常色谱图从而采取相应的处理措施会极大地降低检测报告的错误率。

参考文献

- [1] Little RR, Rohlffing CL, Wiedmeyer HM, et al. The national glycohemoglobin standardization program: a five-year progress report [J]. Clin Chem, 2001, 47(11): 1985-1992.
- [2] 中华医学会糖尿病分会. 中国血糖监测临床应用指南(2011 年版) [J]. 中华医学杂志, 2011, 91(10): 656-664.
- [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]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(6): 965-968.
- [4] 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.
- [5] Little RR, England JD, Wiedmeyer HM, et al. Effects of whole blood storage on results for glycosylated hemoglobin as measured by ion-exchange chromatography, affinity chromatography, and colorimetry [J]. Clin Chem, 1983, 29(6): 1113-1115.
- [6] American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. American Diabetes Association [J].

- Tenn Med, 2000, 93(11):419-429.
- [7] 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.
- [8] International Export Committee. International expert committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes

- [J]. Diabetes Care, 2009, 32(7):1327-1334.
- [9] 陈文祥. 糖化血红蛋白检测标准化及有关问题[J]. 中华糖尿病杂志, 2011, 19(11):803-804.

(收稿日期: 2012-11-08)

• 检验仪器与试剂评价 •

XE-5000 全自动血细胞分析仪的检测原理及维护保养

费中海, 李君安[△], 郭斌, 刘文, 张金花, 李英, 王洪友
(川北医学院附属医院检验科, 四川南充 637000)

摘要:目的 探讨 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪的工作原理, 维护保养思路及步骤。方法 运用 Sysmex XE-5000 各数据的测定原理和测试通道特殊性, 分析并作好该仪器在日常临床工作中的维护保养。结果 Sysmex XE-5000 在使用过程中准确度和精度均很好, 没有因机械故障而影响临床使用。结论 只有掌握仪器各测量通道原理, 并按规范化操作步骤进行仪器的维护保养, 才能更好地保证仪器的正常运行不影响临床使用。

关键词:Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪; 维护保养; 规范化操作

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.051

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)18-2456-01

Sysmex XE-5000 血细胞分析仪(简称 XE-5000)由日本 Sysmex 公司生产该仪器分析和输出血液样本的 43 个参数, 同时对一些研究参数进行分析。以半导体激光器的流式细胞术计数法为基础, 由光检测部分析 WBC、有核红细胞计数(NR-BC)和网织红细胞计数(RET); 由 RBC 检测器分析 RBC 和 PLT; 用 HGB 检测器分析 HGB。IMI 通道通过 RF/DC 检测方法来分析未成熟细胞。该仪器有全血、外周血造血祖细胞、体液等 3 种样品分析类型; 有手工开(闭)盖、毛细管和进样器等 4 种分析模式, 有全血细胞计数(CBC)、CBC+NRBC、CBC+白细胞分类(DIFF)、CBC+DIFF+NRBC、CBC+DIFF+RET、CBC+DIFF+NRBC+RET、CBC+RET 等 7 个可选择的检测项目组合。所以, 要使仪器处于良好的工作状态, 维护保养就十分重要^[1-3]。

1 日常维护保养

检查实验室的温湿度、所有试剂的余量及有效期、执行正常开机并检查本底测试值是否通过、并从主机功能菜单选 TEST→Status→Sensor1 进入检查仪器压力及所有检测器的温度是否稳定。

2 定期、定量维护保养

当仪器每测定 500 人次后, 在“ready”状态下, 选择“SHUTDOWN”进行关机清洗, 程序结束后, 仪器显示“Turn OFF Main Unit”信息时关闭主机电源(以下简称“关闭仪器”)执行定量维护保养。仪器处于关闭状态时, 排出压缩机单元防逆流瓶的液体, 用专用清洗液作 1:10 稀释后清洗冲洗板、样品旋转阀托盘、穿刺针取样器托盘, 清洗 RBC、IMI、检测检测器小孔及 SRV。等待清洗完成后, 按仪器操作说明安装好所有拆卸部位, 仪器重新开启, 选择 Maint→Air Bubble Removal→Execute 程序, 除去 RBC 检测器气泡; 选择 Maint→Rinse Flowcell→Execute 程序, 清洗流动池; 选择 Maint→Drain IMI→Execute, 排空 IMI 检测器内的样品; 重新执行开机自动冲洗程序, 保证所有本底值在允许范围内。

3 更换与保养马达

当进样器分析超过 30 000 次循环后, 将显示信息“Change Piercer”按关机程序关闭主机及电源并打开前盖板, 取下穿刺

取样器、更换并安装; 试管夹变形或不能抓住样品管时, 应该关闭主机, 打开前盖板, 取下 CP 盖板, 根据实际情况更换试管夹和(或)39 号橡胶板, 更换完成后盖上所有盖板。从主机功能菜单选择 TEST→Motor→WBC Aspiration Motor→Execute 程序, 保养全血吸入马达; 选择 TEST→Motor→RBC Sheath Injector→Execute 程序, 保养 RBC 鞘液注射器; 选择 TEST→Motor→FCM Sheath Injector→Execute 程序, 保养 FCM 鞘液注射器。

4 小结

近来五分类全自动血细胞分析仪, 大都采用散点图来显示白细胞的分类情况。因此, 维护人员有必要了解和认识仪器的工作原理和散点图的作用, 总结经验有助于及时发现问题, 有的放矢做好维护。由于 XE-5000 的白细胞分类是采用流式细胞术+染料的方法进行, 因此要严格按照仪器的操作规程工作, 平时还应注重对仪器光路的维护。正确处理医疗仪器设备维护保养与维修的关系, 改变故障发生后的被动维修为主动的预防性维护保养, 是提高医疗仪器设备完好率、开机率和使用率的有效手段, 可以有效地降低医疗仪器设备故障的发生率, 即节约成本, 又不影响临床使用^[4-6]。

参考文献

- 王玉平, 马飞, 赵鹏. 检验仪器故障分析与判断[J]. 中国医学装备, 2011, 8(7):96-98.
- 黄伏生. 血液分析仪的临床应用[M]. 武汉: 湖北人民出版社, 2004.
- 徐建敏, 龚得朋. XE-2100L 血细胞分析仪日常维护与故障维修[J]. 中国医疗设备, 2013, 28(1):147-149.
- 焦瑞宝, 唐吉斌, 黄明坤, 等. Sysmex XE-2000i 血细胞分析仪的常见故障及排除[J]. 实验与检验医学, 2010, 28(5):532-533.
- 潘洁茹, 蔡早育, 林超萍, 等. Sysmex XE-5000 血细胞分析仪白细胞分类性能评价[J]. 医学检验与临床, 2011, 22(3):54-55.
- 章建忠. 浅谈 BECKMAN LX20 全自动生化分析仪的常见故障分析及维护保养[J]. 中国医学装备, 2012, 9(12):105-107.

(收稿日期: 2013-03-28)