

免的、预防的。由于医学知识的专业性较强,这就要求我们医务工作人员在我们的工作中以患者为本,提高业务能力和道德修养,保证医疗服务质量。

总之,为了排除各种因素的干扰保证尿液检验质量,在实际尿液检验工作中必须严格遵照标准化的操作操作规程,采取多种质量控制措施。

参考文献

[1] 翁玉玲,李哲.尿液潜血试验与镜检红细胞结果的对比观察[J].中国医药指南,2012,10(29):52-53.
[2] 郭芳.实验室检测前的影响因素[J].临床检验及实验室设备,2007,9(1):33-34.
[3] 何铭.临床标本采集与分析前质量管理的体会[J].工企医刊,2012,25(1):94-95.
[4] 刘玉兰.加强基层医院检验科质量管理探讨[J].中国当代医药,

2011,18(17):178-181.
[5] 许伟琼,黎瑞冰,胡汉斌.临床尿常规检验的影响因素分析[J].广州医药,2012,43(4):55-57.
[6] 叶艳红.临床尿常规检验的影响因素[J].中国医药指南,2013,11(1):359-360.
[7] 张湘琦,兰爱纯,唐和林,等.尿常规检验的影响因素探讨[J].检验医学与临床,2010,7(16):1757-1758.
[8] 吴桂玲,王丽.尿液干化学分析仪临床应用影响因素及方法学评价[J].检验医学与临床,2010,7(19):2171-2172.
[9] 王学强.尿分析仪检测尿液影响因素的分析与探讨[J].中国民康医学,2006,18(6):236-236.
[10] 从玉龙.临床实验室分析前质量管理及对策[J].中华检验医学杂志,2004,27(8):483-487.

(收稿日期:2013-03-13)

• 质控与标规 •

糖化血红蛋白质控物的研制及应用

王开军,郭长青

(济宁市第一人民医院,山东济宁 272100)

摘要:目的 研制糖化血红蛋白(HbA1c)质控物并进行初步应用。方法 (1)HbA1c 质控物的配制,根据质控物制备要求,利用临床合格全血样本,经多次洗涤制备红细胞悬液,EDTA-K₂ 防凝配制成 Hb>100 g/L,Hct>40%,分析总面积为 3.4×10⁶ 和 3.0×10⁶ 的 HbA1c 质控物,根据 HbA1c 质控物含量不同配制成低值质控物 1 和高值质控物 2。(2)质控物分装保存,将配制的低值质控物 1 和高值质控物 2 分别按每管 5.0 μL 分装,-20℃冰箱保存。(3)质控物的稳定性观察 将配制的低值质控物 1 和高值质控物 2 分别进行日内和日间以及 12 个月的稳定性观察。结果 配制的 HbA1c 质控物 1 和 HbA1c 质控物 2 含量分别为 (5.2±0.12)%和(10.1±0.15)%;配制的 HbA1c 质控物 1 和 HbA1c 质控物 2 其日间和日内 CV 均小于 3.0%,3~12 个月配制的 HbA1c 质控物 1 和 HbA1c 质控物 2 质控结果稳定。将配制的低值质控物 1 和高值质控物 2 和伯乐公司提供的 HbA1c 质控物同时进行 1 个月的质控应用,制备的两个质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物两结果间具有良好的同步性。结论 自制 HbA1c 两水平质控物结果稳定,初步应用质控效果良好。

关键词:糖化血红蛋白; 质控物; 应用
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.047 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)19-2595-02

在糖尿病的管理中,糖化血红蛋白(HbA1c)测定一直是用于评价糖尿病治疗方案有效性的金标准。鉴于 HbA1c 在糖尿病诊断和管理中的重要地位,HbA1c 检测的结果可靠性、准确性尤为重要。随着 HbA1c 检测方法高效液相色谱(HPLC)法作为参考方法的临床应用,加强 HbA1c 检测的质量控制是其检测结果准确可靠的重要措施^[1-4]。目前,国内还没有 HbA1c 质控物的商品供应和制备方法报告,国际上也仅有伯乐、朗道等少数几家公司提供 HbA1c 质控物,但价格昂贵,供应不及时,批号易变,质控结果不易控制;国内学者利用全血作为糖化血红蛋白质控物进行了探讨,采用的方法是免疫比色法,没有得到推广和临床应用。研究者采用国际上正在推广使用的 HPLC,在保证 HbA1c 测定准确可靠的前提下,为方便使用和降低 HbA1c 测定成本,本院检验科根据工作实际的和检验质量保证要求,将按照质控物制备要求,自行研制 HbA1c 质控物,并在实际工作中进行了检验、比较和应用。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 美国伯乐公司提供的 BIO-Red D-10 糖化血红蛋白分析系统(HPLC 法)和配套试剂:包括试剂 1、试剂 2、稀释和冲洗液、定标液(1 和 2)批号 BA1509 和 BA1210、质控物(中值和高值)批号 33831 和 33832、分析住等原装试剂。LZ-5 自动平衡离心机,-20℃冰箱、希斯美康细胞计数仪各 1 台。

1.2 方法

1.2.1 样本选择 收集当日测定 HbA1c 后的样本,选择条件:(1)HbA1c 测定结果分别为 5.5%左右和 10.0%左右;(2)全血样本量各约 2.0 mL;(3)血常规检测 Hb>100 g/L,Hct>40%;(4)乙肝 5 项、甲肝、丙肝、HIV 和梅毒抗体检测,均为阴性全血样本。

1.2.2 选用样本洗涤 选择符合上述条件的两个全血样本,分别混匀移入两只 10 mL 试管,并做好相应标记,以 3 800 r/min 离心 5 min 后,用吸管移除上清液,加入 0.9%生理盐水 5.0 mL,混匀,再以 3 800 r/min 离心 5 min,用吸管移除上清液,加入 0.9%生理盐水 5.0 mL,混匀离心洗涤 5~8 次。最后一次上清液测定其血糖,使血糖浓度为 0.1 mmol/L 以下,弃去上清液。洗涤后样本加入 0.9%生理盐水至 2.0 mL,分别移入 EDTA-2K 防凝试管,并标记低值为质控 1 和高值为质控 2,备用。伯乐公司提供 HbA1c 质控物低值标记为伯乐 1,高值标记为伯乐 2。

1.2.3 样本分装保存 将混匀的两制备样本,用 1.5 mL 容量 D-10 糖化血红蛋白分析系统专用加盖试管分别准确加入 5.0 μL 备用质控物,进行分装。两个制备的质控物分装后分别放冰箱 4~8℃和-20℃保存。

1.2.4 制备的两个质控物 HbA1c 测定 按照 D-10 糖化血红蛋白分析系统(HPLC 法)操作程序进行:分析住活化一定标一质控一质控在控一样本 HbA1c 测定程序,将分装后的两自制质控物各 20 份分别加入 1.5 mL 稀释液,混匀,5 min 后进行

HbA1c 测定。

1.2.5 日内稳定性观察 D-10 糖化血红蛋白分析系统和配套试剂,按照 D-10 糖化血红蛋白分析系统 HbA1c 测定程序,进行分析住活化一定标-质控-质控在控一样本 HbA1c 测定顺序,分别对制备的两个质控物进行一日内进行 20 次 HbA1c 测定。

1.2.6 日间稳定性观察 制备的两个质控物与伯乐质控物随样本每天做一次 HbA1c 测定,进行 20 d HbA1c 测定。

1.2.7 长时间稳定性观察 制备的两个质控物在分装后,随样本于 3、6、8、12 月分别进行 10 份 HbA1c 测定。

1.2.8 实际质控效果观察 将制备的两个质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物,在 2012 年 2 月将制备的 HbA1c 两个质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物,同时在科室每天进行的临床样本 HbA1c 测定时使用,用 1_{2s} 作为警告规则, 1_{3s} , 2_{2s} , R_{4s} 作为失控规则,进行应用效果观察。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件包进行分析,组间比较采用配对 t 检验和相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 两个自制质控物日内稳定性结果($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	HbA1c(%)	CV	分析面积
质控 1	10	5.3±0.12	2.26	3.4×10 ⁶
质控 2	10	10.0±0.13	1.30	3.0×10 ⁶
伯乐 1	10	5.8±0.11	1.89	3.3×10 ⁶
伯乐 2	10	10.3±0.14	1.36	3.2×10 ⁶

表 2 两个自制质控物日间稳定性结果($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	HbA1c(%)	CV	分析面积
质控 1	20	5.25±0.12	2.28	3.4×10 ⁶
质控 2	20	10.1±0.15	1.50	3.0×10 ⁶
伯乐 1	20	5.7±0.12	2.10	3.3×10 ⁶
伯乐 2	20	10.2±0.17	1.66	3.2×10 ⁶

2 结 果

2.1 制备的两个质控物 HbA1c 测定结果:低值质控 1 为(5.2±0.12)%,高值质控 2 为(10.1±0.15)%。且两个质控物 Hb>100 g/L, Hct>40%,分析总面积为 3.4×10⁶ 和 3.0×10⁶ 符合 D-10 糖化血红蛋白分析系统的测定要求。

2.2 两个自制质控物日内和日间稳定性结果测定结果 制备的两个 HbA1c 质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物日内和日间结果显示,两个自制质控物日内质控 1 和质控 2 HbA1c 测定时 CV 均小于 3.0%,具有良好的重复性和可比性。结果见表 1、2。

2.3 两个自制质控物长期稳定性结果 两个自制质控物长期稳定性结果显示制备的两个质控物在分装后随样本分别于 3、6、8、12 月分别进行 HbA1c 测定,其 CV 均小于 3.0%,且各月份间 HbA1c 测定结果比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有良好稳定性。

2.4 两个质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物 2012 年 2 月每天质控结果 2012 年 2 月制备的两个质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物每天质控,用 1_{2s} 作为警告规则, 1_{3s} , 2_{2s} , R_{4s} 作为失控规则,结果显示:制备的两个质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物两结果间具有良好的同步性,29 d 的质控结果中只有 24 号两个自制质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物两结果同时失控,自制 HbA1c 质控物和伯乐公司提供的 HbA1c 质控物同时出现测定结果偏差大于 3S 的失控警告,究其原因 是稀释和冲洗液更换错误,改正后两个自制质控物与伯乐公司的 HbA1c 质控物结果在控;其余各天两个自制质控物与伯乐

公司的 HbA1c 质控物结果均在控,且两个自制质控物结果月 CV 值分别为 2.1% 和 1.9%,伯乐公司的 HbA1c 质控物结果月 CV 值分别为 2.2% 和 1.7%。

3 讨 论

糖化血红蛋白是血液中的葡萄糖与红细胞内的血红蛋白长时间,一定温度下非酶促的结合形成的不可逆稳定物质。血液中的葡萄糖可自由进入红细胞,葡萄糖的浓度高低与糖化血红蛋白的形成密切相关,由于红细胞内的血红蛋白是相对稳定的,血液中葡萄糖越高红细胞内糖化血红蛋白的形成愈多^[1]。

本实验通过洗涤去除红细胞外的葡萄糖,制备成的糖化血红蛋白质控物,-20℃冰箱保存,保证了自制糖化血红蛋白质控物 HbA1c 含量的稳定。通过对该自制 HbA1c 质控物血红蛋白含量的调整,使其血红蛋白浓度在 40 g/L 左右, HbA1 测定时自制 HbA1c 质控物光谱分析总面积为 3.4×10⁶ 和 3.0×10⁶,符合伯乐 D-10 糖化血红蛋白分析系统(HPLC 法)稀释法测定样本要求;通过对该自制 HbA1c 质控物稳定性试验,结果表明,自制 HbA1c 质控物日内日间和长达一年的稳定性指标 CV 小于 NGSP 可接受范围;CV 小于 3.0%,具有良好的重复性和可比性^[5-10]。在 1 个月的期间内,自制 HbA1c 质控物和伯乐公司提供的 HbA1c 质控物同时进行室内质控,高低两含量的 HbA1c 质控物一个月内有相似的波动趋势,相近 HbA1c 含量的两质控物间具有良好的相关性,并在患者 HbA1c 测定过程中,当试剂更换等错误发生时,自制 HbA1c 质控物和伯乐公司提供的 HbA1c 质控物同时出现质控结果大于±3S 的失控警告,且正确更换试剂和调整好 D-10 糖化血红蛋白分析系统重新进行自制 HbA1c 质控物和伯乐公司提供的 HbA1c 质控物测定,两者结果均在控,表明自制的高低两含量的 HbA1c 质控物具有良好的实用性和稳定性。

因此,通过洗涤红细胞自制的高低两含量 HbA1c 质控物符合 D-10 糖化血红蛋白分析系统(HPLC 法)测定要求,进行分装冰冻保存,可长期使用,在患者 HbA1c 检测的质量保证过程中,大大降低了 HbA1c 测定的成本。自制 HbA1c 质控物具有制备简便,成本低廉,使用方便和质量控制效果良好的特点。

参考文献

[1] 纪立农,宁光.糖化血红蛋白[M].北京:人民卫生出版社,2010:130-178.

[2] 冯仁丰.临床检验质量管理技术基础[M].上海:上海科学技术文献出版社,2003:100-106.

[3] Sacks DB, Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry[M]. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999.

[4] IFCC. Approved IFCC reference methods for the measurement of HbA1c in human blood[J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(1): 78-89.

[5] Sakurabayashi I, Watano T, Yonehara S, et al. New enzymatic assay for Glycohemoglobin[J]. Clin Chem, 2003, 49(2): 269-274.

[6] 王冬环,张传宝.全血糖化血红蛋白用常规方法测定的稳定性研究[J].中华医学检验杂志,2009,32(10):1178-1182.

[7] 国家标准物质研究中心.中华人民共和国国家计量技术规范(JJG1006-94)[M].北京:中国计量出版社,1994.

[8] 李影林.中华医学检验全书[M].北京:人民卫生出版社,1996:585-633.

[9] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版,南京:东南大学出版社,2006:36-256.

[10] 王冬环,张传宝,陈文祥,等.应重视血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.