

• 检验仪器与试剂评价 •

两种检测仪对妊娠期妇女糖化血红蛋白 A1c 检测结果的分析

侯雅萍, 龚 波, 李海川, 俞 菁, 章 莉
(长宁区妇幼保健院检验科, 上海 200051)

摘 要:目的 比较 2 种不同原理的高效液相色谱(HPLC)法检测妊娠期糖化血红蛋白 A1c 结果的相关性。方法 采用 VARIANT II 糖化血红蛋白仪及 Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪检测 645 例孕 11 周、380 例孕 32 周孕妇及 10 例新生儿脐带血糖化血红蛋白 A1c,并对检测结果进行比较和分析。结果 VARIANT II 糖化血红蛋白仪离子交换 HPLC 法的精密度批内和批间变异系数(CV)<2%,Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪亲和层析 HPLC 法批内和批间 CV<2%。VARIANT II 糖化血红蛋白仪及 Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪检测 645 例孕 11 周孕妇的检测结果有较好的相关性;检测 380 例孕 32 周孕妇结果有较好的相关性。当糖化血红蛋白 A1c≥5.4%时,两台仪器检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$);亲和层析 HPLC 法能准确检测新生儿脐带血的糖化血红蛋白 A1c 含量,而离子交换 HPLC 法不能测出。结论 离子交换 HPLC 法及亲和层析 HPLC 法检测糖化血红蛋白 A1c 能真实反映不同孕周孕妇患者的糖化血红蛋白 A1c 水平。

关键词:血红蛋白 A,糖基化; 色谱法; 离子交换; 色谱法; 妊娠

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.059 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2013)21-2908-02

糖化血红蛋白 A1c 的检测是一种评价人体内长期糖代谢情况的实验方法。糖化血红蛋白 A1c 能客观地反映受检者检测前 2~3 个月的平均血糖水平。70 年代后期,糖化血红蛋白 A1c 检测成功应用于糖尿病患者的血糖监测^[1-2],随后在产科领域得到推广,对妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)孕妇进行血糖监测及高危妊娠的监护^[3]。目前,临床实验室糖化血红蛋白 A1c 检测法主要有离子交换层析法、电泳法、亲和层析法、离子捕获法、免疫法及电泳法等^[4]。离子层析高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)是公认的金标准检测法。亲和层析法与离子交换法检测不同周期孕妇未见报告。本文通过用 2 种不同原理的方法同时检测不同周期孕妇和新生儿脐带的糖化血红蛋白 A1c 含量,并进行比较分析,探讨 2 种方法在检测结果上的一致性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1~2 月在上海市长宁区妇幼保健院门诊就诊的孕 11 周孕妇 645 例,孕 32 周孕妇 380 例,空腹取静脉血;并采集新生儿脐带血 10 例,所有标本均于当天检测。

1.2 试剂与仪器 主要试剂包括:美国 Bio-Rad 公司 VARIANT II 糖化血红蛋白仪专用试剂;美国 Primus 公司 Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪专用试剂。低、高质控液购自上海市临床检验中心。主要仪器:美国 Bio-Rad 公司 VARIANT II 糖化血红蛋白仪、美国 Primus 公司 Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪。

1.3 方法 严格按仪器和试剂标准操作规程检测标本,按要求进行室内质控。VARIANT II 糖化血红蛋白仪的检测原理为离子交换 HPLC, Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪的检测原理为亲和层析 HPLC。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,率的比较采用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为显著性检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

取低、高质控品采用 VARIANT II 糖化血红蛋白仪及 Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪在一次实验中重复检测 20 次,得批内精密度。每日上、下午检测 1 次,连续检测 10 d,得

批间精密度,结果见表 1。VARIANT II 糖化血红蛋白仪离子交换 HPLC 法的精密度实验中,批内和批间变异系数(coefficient of variation,CV)<2%,亲和层析 HPLC 法的批内和批间 CV<2%。

表 1 VARIANT II 糖化血红蛋白仪及 Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪的批内和批间精密度比较

检测方法	批内精密度				批间精密度			
	<i>n</i>	$\bar{x}$	s	CV(%)	<i>n</i>	$\bar{x}$	s	CV(%)
离子交换								
低值	20	5.38	0.08	1.00	20	5.33	0.07	1.31
高值	20	9.77	0.07	0.76	20	9.69	0.08	0.78
亲和层析								
低值	20	5.23	0.06	1.14	20	5.21	0.06	1.15
高值	20	9.61	0.08	0.83	20	9.59	0.08	0.83

将 645 例孕 11 周孕妇及 380 例孕 32 周孕妇的静脉血于取血当天同时用离子交换 HPLC 法及亲和层析 HPLC 法检测糖化血红蛋白 A1c,结果见表 2,两种方法检测,无论是孕 11 周孕妇,还是孕 32 周孕妇的糖化血红蛋白 A1c 值的相关性好。

表 2 离子交换 HPLC 法及亲和层析 HPLC 法检测孕妇糖化血红蛋白 A1c 含量

组别	<i>n</i>	离子交换	亲和层析	<i>r</i>
		HPLC 法(%)	HPLC 法(%)	
孕 11 周孕妇	645	5.0±0.2	5.1±0.2	0.909
孕 32 周孕妇	380	5.0±0.3	5.2±0.3	0.921

糖化血红蛋白 A1c 以 5.4%为临界(cut off,CO)值,比较离子交换 HPLC 法及亲和层析 HPLC 法在不同糖化血红蛋白 A1c 含量范围内的相关性。按离子交换 HPLC 法检测糖化血红蛋白 A1c 含量的分布,结果见表 3。糖化血红蛋白 A1c>5.4%时,两台仪器检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

5 例顺产新生儿在出生时采集脐带血,用离子交换 HPLC 法及亲和层析 HPLC 法检测糖化血红蛋白 A1c 及胎儿血红蛋

白(fetal hemoglobin, HbF)结果,见表 4。

表 3 离子交换 HPLC 法及亲和层析 HPLC 法检测糖化血红蛋白 A1c 含量的比较

组别	离子交换	亲和层析	P
	HPLC 法(%)	HPLC 法(%)	
糖化血红蛋白 A1c<5.4%组	4.9±0.2	5.1±0.2	0.00
糖化血红蛋白 A1c≥5.4%组	5.5±0.2	5.5±0.3	0.21

表 4 离子交换 HPLC 法及亲和层析 HPLC 法检测新生儿脐带血糖化血红蛋白 A1c 含量的比较

样本	糖化血红蛋白 A1c 含量(%)		HbF (%)	血糖 (mmol/L)
	亲和层析 HPLC 法	离子交换 HPLC 法		
样本 1	3.8	—	65	4.03
样本 2	3.6	—	70	3.34
样本 3	3.7	—	69	3.84
样本 4	3.6	—	70	3.87
样本 5	3.8	—	63	4.12
样本 6	3.6	—	68	3.54
样本 7	3.7	—	71	3.95
样本 8	3.8	—	67	4.02
样本 9	3.9	—	68	3.54
样本 10	3.5	—	72	3.08

3 讨 论

糖化血红蛋白 A1c 的检测是评价人体内长期糖代谢情况的方法,研究表明,GDM 是产科中较为常见的一种高危因素,易造成羊水过多、妊娠高血压综合征、畸形胎儿和巨大胎儿及死胎,进而又增加了难产的发生概率和母婴围生期病死率^[5]。因此,GDM 的筛查及诊断十分重要。近年来,国内、外有研究报道,应用糖化血红蛋白 A1c 的检测是 GDM 血糖评估的最重要指标^[6],治疗方案的确定需要参考患者糖化血红蛋白 A1c 水平。为保证 GDM 医疗质量和临床实验的合理性,必须要求有良好的实验室间结果。因此,要求实验室里应用不同糖化血红蛋白 A1c 检测方法所产生的结果应具有良好的可比性。本文通过用两种不同原理的 HPLC 仪检测不同孕周孕妇和新生儿脐带血的糖化血红蛋白 A1c,并进行比较,来研究两种方法之间检测结果的一致性。离子交换 HPLC 是利用糖化血红蛋白 A1c 与其他血红蛋白带电性的不同,通过离子交换的管柱达到分离目的,故受与 A1C 带电性相似的变异血红蛋白和血红蛋白衍生物的影响^[7],而亲和层析 HPLC 则是利用葡萄糖和血红蛋白稳定结合产生 cis-diol 官能基与硼酸盐进行特异性结合,利用管柱层析来分析所有被糖化的血红蛋白,变异血红蛋白和病理血红蛋白对亲和层析法的影响其他方法小^[4]。

精密度实验离子交换 HPLC 法的批间和批内差均 CV<2%,亲和层析 HPLC 法批间和批内差 CV 均<2%,精密度实验表明两种仪器的重复性很好。对比实验 1 中两种原理的 HPLC 检测的结果相近,两者没有显著性差异分别为 $r=0.909$ 和 $r=0.921$,说明两种原理的 HPLC 仪检测的结果相关性好。本实验室曾对糖化血红蛋白 A1c 检测在 GDM 筛查中的临床价值进行研究^[8],研究表明,可将 5.4%确定为糖化血

红蛋白 A1c 筛查 GDM 的 CO 值。本研究中,当糖化血红蛋白 A1c≥5.4%时, $P>0.05$,VARIANT II 糖化血红蛋白仪及 Premier™ Hb9210 糖化血红蛋白仪检测结果比较,差异无统计学意义,进一步表明 5.4%可确定为糖化血红蛋白 A1c 筛查 GDM 的 CO 值。亲和层析 HPLC 法能正常检测出新生儿的糖化血红蛋白 A1c 值,反映其平均血糖浓度,而离子交换 HPLC 法不能检测其浓度,结果与文献^[9-11]报道一致,在 HbF 含量达 70%左右时,离子交换 HPLC 法不能检测糖化血红蛋白 A1c 含量。新生儿脐带血中含有大量 HbF,大约为 70%,其等电点与糖化血红蛋白 A1c 等电点比较接近,在检测过程中,糖化血红蛋白 A1c 峰大部分或完全叠加在 HbF 峰中,使糖化血红蛋白 A1c 的检测值大大偏低或检测不出,故离子交换 HPLC 法不能真实反映其含量,而亲和层析 HPLC 法不受影响。

综上所述,采用这 2 个不同检测系统检测孕妇糖化血红蛋白 A1c 的结果具有可比性和良好的相关性,两者均能满足临床的要求,实验室可根据自身条件选择合适的检测方法。而对于新生儿脐血的糖化血红蛋白 A1c 检测,亲和层析 HPLC 法能对其糖化血红蛋白 A1c 进行检测,而离子交换 HPLC 法不能测出新生儿脐血糖化血红蛋白 A1c。

参考文献

[1] 刘蔚,周翔海.用糖化血红蛋白诊断糖尿病——WHO 咨询报告[J].中国糖尿病杂志,2011,19(1):2-10.

[2] 韩文静.糖化血红蛋白检测及临床应用[J].现代中西医结合杂志,2007,16(7):959-960.

[3] 向元玉.糖化血红蛋白测定在妊娠糖尿病诊断中的意义探讨[J].医学信息,2009,22(11):2506-2507.

[4] 胡进访.糖化血红蛋白检测方法学的研究进展[J].医学综述,2010,16(13):2047-2050.

[5] Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, et al. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes[J]. N Eng J Med,2005,352(24):2477-2486.

[6] Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. Variability in the relationship between mean plasma glucose and HbA1c: implications for the assessment of glycemic control[J]. Clin Chem, 2007, 53(5): 897-901.

[7] 王剑,张森.糖化血红蛋白的检测进展[J].中国血液流变学杂志,2005,15(2):340-341.

[8] 龚波,俞菁,张昕明,等. HbA1c 在妊娠期糖尿病筛查中的临床价值[J]. 检验医学,2011,26(3):190-192.

[9] 谢荣荣. 离子交换 HPLC 法和亲和层析 HPLC 法检测[J]. 中国实验诊断学,2009,13(3):384-386.

[10] 王虹,高颖,纪立农. Primus Ultra2 亲和层析 HPLC 系统在糖化血红蛋白检测上的临床应用[J]. 中华医学检验杂志,2006,7(3):185-186.

[11] 李晖,朱忠良,李桂林,等. 新生儿血糖动态变化的探讨[J]. 临床儿科杂志,2001,19(2):84-85,113.

[12] 廖怡,徐雪亮,金洁美,等. 变异血红蛋白对 2 种基于 HPLC 原理的糖化血红蛋白检测系统的影响[J]. 检验医学,2009,24(4):251-254.