

## · 调查报告 ·

## 广东中山地区糖化血红蛋白检测现状调查\*

徐全中, 温冬梅<sup>△</sup>, 张秀明, 索明环, 吴剑杨, 李 曼, 萧金丽, 阙丽娟, 庞嘉琳

(中山大学附属中山医院检验医学中心, 广东中山 528403)

**摘要:**目的 对广东中山地区糖化血红蛋白的检测现状进行调查。方法 以 Bio-Rad VARIANT II TURBO 糖化血红蛋白分析仪作为比对系统, 以通过 NGSP 认证的 Bio-Rad D-10 糖化血红蛋白分析仪作为参比系统, 用 20 份不同浓度的新鲜全血进行比对; 再以通过比对系统对两份新鲜全血进行赋值, 两份赋值的新鲜全血与另外 3 个定值的 Bio-Rad 全球室间糖化血红蛋白调查物作为调查品派发给参与调查的 17 家实验室, 对回报结果进行统计分析。结果 比对系统与参比系统具有可比性; 17 家实验室使用 12 套检测系统, 分析方法包括 3 种, 分别是离子交换高效液相色谱法、免疫比浊法和微粒色谱法。糖化血红蛋白检测的百分偏倚范围和变异系数(CV)范围分别为 0.00%~32.29%、2.30%~14.59%, 其中离子交换高效液相色谱法的平均百分偏倚和 CV 均最小, 新鲜全血和室间调查物的平均百分偏倚和 CV 分别为 1.79%、2.30% 和 4.35%、6.28%。结论 Bio-Rad VARIANT II TURBO 和 Bio-Rad D-10 糖化血红蛋白分析检测系统检测结果相关性良好。中山地区糖化血红蛋白检测使用多个检测系统和检测方法, 不同检测系统、检测方法间糖化血红蛋白检测结果一致性有待进一步提高。

**关键词:** 血红蛋白 A, 糖基化; 实验室技术和方法; 广东

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.01.022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)01-0054-03

## Investigation of glycohemoglobin A1c detection status in Zhongshan, Guangdong\*

Xu Quanzhong, Wen Dongmei<sup>△</sup>, Zhang Xiuming, Suo Minghuan, Wu Jianyang, Li Man, Xiao Jinli, Kan Lijuan, Pang Jialin  
(Center of Laboratory Medicine, Zhongshan Hospital of Sun Yat-Sen University, Zhongshan, Guangdong 528403, China)

**Abstract: Objective** To investigate the status of glycohemoglobin A1c detection in Zhongshan area. **Methods** Bio-Rad VARIANT II TURBO glycohemoglobin analyzer was chosen as a comparison system, Bio-Rad D-10 glycohemoglobin analyzer which through the NGSP certification was chosen as a reference system. 20 different concentrations of fresh whole blood was collected for comparison. Then through comparison system on two fresh whole blood assignment, the two assignment of fresh whole blood and the other three valued Bio-Rad global chamber investigation were surveyed to 17 laboratories. The results were statistically analyzed. **Results** The comparison system and reference system were comparable. In 17 laboratories used 12 sets of detection system, and the analysis methods included ion exchange high performance liquid chromatography(IE-HPLC), immunoturbidimetry and particulate chromatography. Detection of glycohemoglobin A1c percentage bias range and coefficient of variation (CV) range were 0.00%—32.29% and 2.30%—14.59% respectively. The average percentage bias of IE-HPLC was minimum. The average percent bias and CV of fresh whole blood and global chamber investigation were 1.79%, 2.30% and 4.35%, 6.28% respectively. **Conclusion** Bio-Rad VARIANT II TURBO and Bio-Rad D-10 glycohemoglobin detection system for detecting results correlated well. Detection of glycohemoglobin A1c in Zhongshan used multiple detection systems and detection methods. Glycohemoglobin A1c test results consistency between different detection systems and detection methods need to be further improved.

**Key words:** hemoglobin A, glycosylated; laboratory techniques and procedures; Guangdong

2009 年美国糖尿病协会(ADA)国际专家委员会正式推荐糖化血红蛋白作为糖尿病的诊断指标之一<sup>[1]</sup>。其中一个重要的原因就是美国糖化血红蛋白检测已经高度标准化, 不同实验室之间具有很好的检测一致性, 因此才考虑用糖化血红蛋白作为诊断糖尿病的诊断指标<sup>[2]</sup>。但在我国糖化血红蛋白检测一致性与国际水平却存在明显差距, 国内各临床实验室所使用的分析仪器、方法和试剂种类繁多<sup>[3]</sup>, 因此这些都使不同实验室间的检测结果不具有可比性。为了解中山地区糖化血红蛋白检测的现状, 也为以后中山地区糖化血红蛋白检测一致性工作的开展奠定基础, 研究者对中山地区糖化血红蛋白的检测现状进行了初步的调查。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 采血管采用 BD 公司的 EDTA-K<sub>2</sub> 真空采血管(批号为 1307177, 抗凝剂浓度为 3.6 mg); 20 份比对样本(浓度为 4.0%~16.6% 覆盖整个分析测量范围, 其中 50% 样

本的浓度高于参考区间上限)和 2 个全血调查品均采用无溶血、黄疸、脂血、异常血红蛋白的新鲜全血, 其他 3 个调查品采用已定值的 Bio-Rad 全球室间糖化血红蛋白调查物。

## 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 参比系统** 金城检验中心 Bio-Rad D-10 糖化血红蛋白分析仪及其配套试剂、校准品、质控品和配套消耗品。此检测系统通过了 NGSP I 级参考实验室认证。

**1.2.2 比对系统** Bio-Rad VARIANT II TURBO 糖化血红蛋白分析仪及其配套试剂、校准品、质控品和配套消耗品。

## 1.3 方法

**1.3.1 比对系统的精密度验证和比对系统与参比系统的比对** 参考美国临床和实验室标准化协会(CLSI)发表的 EP15-A2 文件《用户对精密度和准确度性能的核实验 2 批准指南》<sup>[4]</sup>, 分析内不精密度为 0.36%, 总不精密度为 0.62%; 比对系统与参比系统的比对选择每天在 2 个检测系统上检测 5 个浓度的

\* 基金项目: 中山市科技计划资助项目(20122A034)。 作者简介: 徐全中, 男, 主管技师, 主要从事临床生物化学检验研究。 △ 通讯作者, E-mail: meizi4130@21cn.com。

样本,各重复测定 2 次,持续 4 d。

**1.3.2 调查品赋值和派发** 选择 2 个新鲜全血和 3 个定值的 Bio-Rad 全球室间糖化血红蛋白调查物作为调查品。用通过比对试验的 Bio-Rad VARIANT II TURBO 糖化血红蛋白分析仪对 2 个新鲜全血分别测定 4 次,计算各自平均值作为标示值。3 个 Bio-Rad 全球室间糖化血红蛋白调查物直接采用其给定的值作为标示值。5 个调查品在 2 h 内由专职人员派发给参与调查的 17 家实验室。17 家实验室在未知标示值的情况下对已重新编号的调查品进行检测,2 h 内回报结果。

**1.3.3 评价方法** 2 个检测系统的比对试验数据处理参照美国国家糖化血红蛋白标准化计划(NGSP)认证 II 级定值检测实验室的要求:糖化血红蛋白检测结果与定值偏倚的 95% 可信区间误差 < 0.75%,比对系统与参比系统检测值百分偏倚的绝对值小于 8%。

**1.4 统计学处理** 使用 SPSS 17.0 软件,对比对系统相对参比系统各个测定值进行直线回归分析,要求  $r^2 \geq 0.95$ ,线性系数在  $1 \pm 0.03$  之间;计算比对系统各测定结果相对参比系统的各个测定均值的百分偏倚、总的平均偏倚和标准差;计算参与调查的实验室糖化血红蛋白各个检测结果的百分偏倚和同一检测方法的 CV。

**2 结 果**

**2.1 比对系统与参比系统的比对**

**2.1.1** 以参比系统对各个样本双份检测的均值作为横坐标,

以比对系统对相应样本的检测值作为纵坐标作直线回归分析: $Y=1.0116X-0.2022(n=40, r^2=0.9978)$ 。

**2.1.2** 20 份新鲜全血各个测定值的百分偏倚绝对值范围为 0.00%~6.98%;比对系统与参比系统对糖化血红蛋白检测的平均偏倚为 -0.10%,s 为 0.18%,比对系统与参比系统偏倚的 95% 可信区间误差为 (-0.46%, 0.26%),见图 1。

**2.2** 17 家实验室糖化血红蛋白检测回报结果分析 参与调查的 17 家实验室有 3 种分析方法在使用,分别是离子交换高效液相层析法(7/17)、免疫比浊法(4/17)和微粒色谱法(6/17)。7 家 IE-HPLC 法检测的实验室使用 5 个品牌、6 套检测系统,4 家免疫比浊法检测的实验室使用 2 个品牌、4 套检测系统,6 家微粒色谱法检测的实验室使用 2 个品牌、2 套检测系统。参与调查的 17 家实验室对调查品检测结果的百分偏倚和 CV 见表 1。

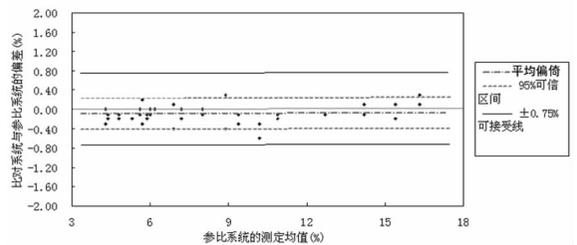


图 1 比对系统与参比系统的偏差分析

表 1 5 个调查品在 17 家实验室检测结果的统计分析

方法	参与调查 实验室数 (n)	定值新鲜全血(%)			Bio-Rad 定值调查物(%)		
		平均百分偏倚 糖化血红蛋白	百分偏倚范围 糖化血红蛋白	CV	平均百分偏倚 糖化血红蛋白	百分偏倚范围 糖化血红蛋白	CV
免疫比浊法	4	10.95	0.93~25.93	12.60	12.96	1.04~32.29	14.59
微粒色谱法	6	5.02	0.00~11.11	6.40	—	—	—
离子交换高效液相层析法	7	1.79	0.00~3.70	2.30	4.35	0.00~18.46	6.28
所有组	17	5.56	0.00~25.93	8.52	6.75	0.00~32.29	10.22

—:未检出。

**3 讨 论**

糖化血红蛋白不仅反映了长期血糖的控制情况,而且在糖尿病及其并发症的诊断、疗效监测、预后判定上也具有重要的价值<sup>[5-7]</sup>。糖化血红蛋白在糖尿病中的作用已得到国际共识,其标准化就显得至关重要。2008 年美国 CAP 公布的糖化血红蛋白调查结果显示,其检测均值与 NGSP 的糖化血红蛋白低、中、高靶值的差异分别为 0.3%、0.6% 和 0.9%,超过 90% 实验室方法之间的差异小于或等于 0.5%<sup>[8]</sup>。而目前我国实验室糖化血红蛋白测定的总误差尚不能满足临床需要,研究者在糖化血红蛋白质量管理上尚有许多工作要做<sup>[9-10]</sup>。

不同检测系统间的有效比对,是实现检测结果一致性的重要手段之一。本实验通过 Bio-Rad VARIANT II TURBO 糖化血红蛋白分析仪检测系统与获得 NGSP 认证的 Bio-Rad D10 糖化血红蛋白分析仪检测系统用新鲜全血进行比对,结果证实两个检测系统的偏差在 NGSP 对 II 参考实验室认证要求的范围之内,VARIANT II TURBO 糖化血红蛋白分析仪检测系统可以标准化至糖尿病控制与并发症研究(DCCT)的方法。此检测系统可以为新鲜全血调查品赋值。在国内,糖化血红蛋白检测方法和仪器试剂厂家较多,本次参与调查的有 17 家实验室,采用了 3 种分析方法,9 个品牌 12 套检测系统,体现了国内糖化血红蛋白检测系统种类繁多的现状。参与调查的 3

种分析方法之间,IE-HPLC 法平均百分偏倚和 CV 不管是新鲜全血还是 Bio-Rad 定值调查物均是最小的,其平均百分偏倚分别为 1.79% 和 4.35%,满足 2013 年美国病理学家协会(CAP)对糖化血红蛋白检测 < 6%<sup>[11]</sup> 的偏倚要求。新鲜全血测定的 CV 最大是 3.70%,达到 NGSP 对不同实验室间糖化血红蛋白检测 CV < 5%<sup>[12]</sup> 的要求,与 2011 年美国国家临床生化科学院建议的糖化血红蛋白检测室间变异小于 3.5%<sup>[13]</sup> 基本接近,其检测一致性较好。免疫比浊法一般可能在大型生化分析仪上进行,其 CV 值应该还是比较小的,但本次调查的 CV 大于 2013 年卫生部糖化血红蛋白室间质评免疫比浊法的平均 CV 为 9.15%,明显超出了 NGSP 5% 的要求;其百分偏倚也达不到 CAP < 6% 的要求。这可能与不同厂家试剂的抗体来源、纯度和亲和力不同有关。微粒色谱法平均百分偏倚和 CV 比免疫比浊法要小,但仅仅 2 个检测系统其 CV 已超出 NGSP 5% 的要求,其检测结果一致性还是有待提高的。基质效应在处理过的样本中普遍存在,糖化血红蛋白的检测也不例外,本调查中任何一种方法 Bio-Rad 定值调查物检测的平均百分偏倚和 CV 均大于新鲜全血,微粒色谱法甚至对 Bio-Rad 定值调查物出现不能检出的情况,这与以往报道一致<sup>[14]</sup>。提示在进行不同检测系统结果一致性调查时,应尽可能使用新鲜全血作为调查物,把基质效应的影响降低到最小。(下转第 57 页)

本研究的结果显示,广东省南海地区常见的非缺失型  $\alpha$  地贫基因携带率为 0.47%,明显低于广西横县地区报道的 2.14%<sup>[4]</sup>和南宁地区报道的 2.44%<sup>[6]</sup>。本课题组曾于 2010 年,在未有检测非缺失型  $\alpha$  地贫的情况下完成了关于本地区常见缺失型  $\alpha$  地贫和常见  $\beta$  地贫的分子流行病学调查,当时的数据显示育龄人群中地贫基因总携带率为 9.91%,其中  $\alpha$  地贫基因(缺失型  $\alpha$  地贫)携带率为 6.45%, $\beta$ -地贫基因携带率为 3.46%<sup>[6]</sup>,根据本研究的数据补充和完善,进一步阐明了本地区的  $\alpha$  地贫基因携带率应为 6.92%,地贫基因总携带率应为 10.38%。在常见 3 种非缺失型  $\alpha$  地贫中,发现 HbWS 的基因携带率为 0.19%,构成比为 40.45%; HbQS 的基因携带率为 0.17%,构成比为 35.39%; HbCS 的基因携带率为 0.11%,构成比为 24.16%。与黄忠等报道的广西地区 HbCS 携带率为 1.16%、构成比为 54.08%; HbWS 携带率为 0.83%、构成比为 38.91%; HbQS 携带率为 0.15%、构成比为 7.01% 有较大的差异。与屈艳霞等<sup>[2]</sup>报道的广东省番禺地区的 HbQS、HbWS、HbCS 构成比依次为 72.28%、14.85%、12.87% 也有较大的差异。对比数据表明  $\alpha$  地贫基因突变会随地理和人群分布的不同而存在差异<sup>[7]</sup>。

在 18 981 对受检的计划怀孕夫妻中,检出 8 对夫妻为一方为东南亚缺失型  $\alpha$  地贫或者是 HbH 病,另一方为非缺失型  $\alpha$  地贫的生育非缺失型 HbH 病后代的高风险夫妇。所有高风险夫妇均接受了本单位提供的遗传咨询,在知情同意下进行了产前诊断确诊。非缺失型  $\alpha$  地贫虽然不是地贫的主要突变类型,但在我国南方  $\alpha$  地贫的基因缺陷中,其所占的比例不容忽视,在我国  $\alpha$  地贫发病率最高的广西有 45.8%~53.3% 的 HbH 病患者携带非缺失型  $\alpha$  地贫基因<sup>[8]</sup>。另外,由于非缺失型绝大多数突变位于功能较强的  $\alpha 2$  基因,比缺失型导致更严重的  $\alpha$ -珠蛋白链合成减少,普遍认为非缺失型 HbH 病的临床表现和血液学改变均比缺失型 HbH 病重<sup>[9]</sup>。因此,建议在一方确诊为携带有东南亚缺失型  $\alpha$  地贫基因或者非缺失型  $\alpha$  地贫基因时,另一方需要做缺失型  $\alpha$  地贫基因分析的同时,也有必要做非缺失型  $\alpha$  地贫基因分析,这在制定  $\alpha$  地贫的预防方案时要引起高度重视。

(上接第 55 页)

通过这次调查活动,研究者对中山地区糖化血红蛋白的检测现状进行了初步的了解。但还有一些不足的地方,比如调查品的个数还比较少、调查品未完全采用新鲜全血,另外,调查品不是直接使用通过 NGSP 认证的检测系统进行赋值,影响了调查品的准确性和可信度。目前,研究者正在筹备通过 NGSP 认证的工作。2011 年上海 3 家具有 NGSP 认证资质的实验室所开展的糖化血红蛋白一致性工作,为全国标准化,也为开展这次调查提供了宝贵的经验,与之相比研究者还有很多的工作要做。

参考文献

[1] The International Expert Committee. Expert committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes[J]. Diabetes Care, 2009, 32: 1344-1345.  
 [2] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010[J]. Diabetes Care, 2010, 33: S11-S61.  
 [3] 索艳,李强.糖化血红蛋白测定方法及影响因素的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2010, 23(2): 210-213.  
 [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Userdemonstration of performance for precision and accuracy EP15-A2 [S]. Wayne, USA: CLSI, 2004.  
 [5] 胡大一,郭艺芳,孙艺红.稳定性冠心病患者血糖管理的中国专家

本研究未发现常见非缺失型  $\alpha$  地贫的纯合子或双重杂合子,可能是发生率极低和调查例数不足的缘故。由于技术条件有限,本研究未对其他突变类型的非缺失型  $\alpha$  地贫进行研究。据报道在血液学筛查指标阴性群体中也存在一定比例的非缺失型  $\alpha$  地贫携带者,笔者也在临床中检出一定数量的血液学筛查指标为阴性的非缺失型  $\alpha$  地贫携带者,但由于调查例数尚少,未有纳入本研究的统计分析。较为全面的基因分析是提高地贫携带者检出率的保证,本研究虽然首次较为全面地阐明了本地区常见非缺失型  $\alpha$  地贫的分子流行病学状况,但本课题的不足之处,仍有待在以后的更大人群量、更深入全面的研究中进一步完善。

参考文献

[1] 陆国辉. 产前遗传病诊断[M]. 广州: 广东科技出版社, 2002: 169.  
 [2] 曲艳霞,陈桂兰,唐盈,等. 101 例非缺失型  $\alpha$  地中海贫血基因分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(1): 19-20.  
 [3] Hartevelde CL, Higgs DR.  $\alpha$ -thalassaemia[J]. Orphanet J Rare Dis, 2010, 28(5): 13.  
 [4] 黄忠,张新华,阮丽明,等. 6000 对新婚夫妇非缺失型  $\alpha$  地中海贫血检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 12(8): 1409-1410.  
 [5] 周艳洁,阮丽明,何桂琼,等. 全自动琼脂糖凝胶电泳检测地中海贫血 7500 例结果分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2007, 6(3): 355-357.  
 [6] 潘干华,李哲刚,申莞子,等. 广东南海地区育龄人群地中海贫血分子流行病学调查[J]. 中国计划生育学杂志, 2011, 2(1): 98-100.  
 [7] 段山,李洪义,陈争,等. 中国南方  $\alpha$ -地中海贫血基因突变型研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2003, 11(1): 54-60.  
 [8] Yin XL, Zhang Xh, Zhou TH, et al. Hemoglobin H disease in Guangxi province, Southern China: clinical review of 357 patients [J]. Acta Haematol, 2010, 124(2): 86-91.  
 [9] 孙曼娜,熊符,张新华,等. 血红蛋白 Constant Spring 的表型与基因型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2010, 27(5): 481-483.

(收稿日期: 2013-08-25)

共识(修订版讨论稿)[J]. 心脑血管病防治, 2010, 10(1): 4-9.

[6] 周佳焯,吴炯. 糖化血红蛋白测定在糖尿病诊断和治疗中的应用[J]. 检验医学, 2010, 25(8): 583-587.  
 [7] 孟岩,王翀,郝彦平,等. 糖化血红蛋白测定应用于糖尿病心血管系统并发症的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13): 1489-1490.  
 [8] College of American Pathologists. CAP GH-2a 2008 Summary [EB/OL]. <http://www.ngsp.org/CAPdata.asp>, 2010-04-09.  
 [9] 陈文祥. 糖化血红蛋白检测标准化及有关问题[J]. 中国糖尿病杂志, 2011, 19(11): 803-804.  
 [10] 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): 497-500.  
 [11] Change in CAP GH2 HbA1c survey grading. <http://www.ngsp.org/news.asp>, 2013-07-03.  
 [12] Diabetes in HK-Hong Kong institute of medical laboratory sciences. <http://www.ngsp.org/ngsp/prog/News/UKconsent.htm>, 2010-06-29.  
 [13] Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. <http://www/aacc.org/members/nacp/LMPG/>.  
 [14] 王美娟,居漪,唐立萍,等. 2008 至 2009 年度上海市糖化血红蛋白项目室内质评结果分析[J]. 检验医学, 2010, 25(11): 891-896.

(收稿日期: 2013-09-06)