immunochromatographic treponemal antibody test comparing the treponema pallidum particle agglutination assay [J]. J Clin Lab Anal,2015,29(5):383-386.
[9] FUKUDA H,TAKAHASHI M,KATO K,et al. Multiple primary syphilis on the lip,nipple-areola and penis:an immunohistochemical examination of Treponema pallidum localization using an anti-T. pallidum antibody[J]. J Dermatol,2015,42(5):515-517.
[10] 魏方,张鹏. ELISA法与TPPA法检测梅毒螺旋体抗体的相关性研究[J]. 蚌埠医学院学报,2014,1(5):651-652.
[11] LUTHRA A,ANAND A,HAWLEY K L,et al. A homology model reveals novel structural features and an immunodominant surface loop/opsonic target in the treponema pallidum BamA ortholog TP—0326[J]. J Bacteriol,2015,197(11):1906-1920.
[12] HUMPHRIES R M,WOO J S,CHUNG J H,et al. Laboratory evaluation of three rapid diagnostic tests for dual detection of HIV and treponema pallidum antibodies[J]. J Clin Microbiol,2014,52(12):4394-4397.
[13] STAMM L V,DRAPP R L. A synthetic lymph node containing inactivated Treponema pallidum cells elicits strong,antigen-specific humoral and cellular immune responses in mice[J]. Pathog Dis,2014,70(1):88-94.
[14] 邹红霞,郝军,倪丽娜,等. 四种梅毒螺旋体抗体血清学试验方法的临床评价[J]. 国际免疫学杂志,2014,37(3):260-262.
[15] 蔡徐山,齐结华,陈宇,等. 化学发光免疫分析法检测孕妇抗TP抗体阳性判断值探讨[J]. 检验医学,2015,11(12):1190-1192.
[16] LEVCHIK N,PONOMAREVA M,SURGANOVA V A. Treponema pallidum Haemagglutination Assay Serum Titres as a Predictor of Cerebrospinal Fluid Abnormalities in Patients with Syphilis[J]. Acta Derm Venereol,2015,95(7):841-842.
[17] 吴立春,代黄梅,谷仕艳,等. 3种梅毒抗体检测方法在梅毒诊断中的应用分析[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(8):1053-1055.
[18] MARRA C M,TANTALO L C,SAHI S K,et al. Reduced treponema pallidum-Specific opsonic antibody activity in HIV-Infected patients with syphilis[J]. J Infec Dis,2016,213(8):1348-1354.
[19] 李晓霞,迟伟群,姚玉虹,等. 温湿度对高通量ELISA检测系统检测梅毒螺旋体抗体影响的分析[J]. 标记免疫分析与临床,2015,22(1):46-51.

(收稿日期:2017-12-20 修回日期:2018-03-28)

· 短篇论著 ·

氨基甲酰血红蛋白对3种糖化血红蛋白检测方法干扰研究*

贺乐奇[1],沈 芳[1],李 鹏[2],胡 娟[1],葛亚娟[1],申春梅[1△]
(复旦大学附属上海市第五人民医院 1.检验科;2.肾内科,上海 200240)

摘 要:目的 评估慢性肾脏疾病(CKD)5期患者糖化血红蛋白(HbA1c)检测结果受氨基甲酰血红蛋白(carHb)的影响。**方法** 收集进行血液透析治疗的CKD5期患者92例,其中31例合并2型糖尿病(T2DM),分别使用毛细管电泳法(Sebia Capillarys™2 Flex Piercing)、离子交换高效液相色谱法(Variant Ⅱ Turbo 2.0)和硼酸亲和层析法(Primus Ultra2)进行检测HbA1c。用广义估计方程用来分析不同测量方法之间的差异,作业相关矩阵设为复对称相关结构,进一步计算HbA1c的最小二乘均数,并以硼酸亲和层析法作为参比方法进行多重比较。**结果** CKD5合并T2DM组中Variant Ⅱ turbo 2.0检测HbA1c结果与参比方法比较差异无统计学意义($P>0.05$);CKD5无T2DM组Variant Ⅱ turbo 2.0检测HbA1c结果与参比方法比较差异有统计学意义($P<0.001$),其差异为15.48%,有临床意义。CKD5合并T2DM组和无T2DM组,Sebia Capillarys™2 Flex Piercing检测HbA1c结果与参比方法比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 对CKD5患者,Sebia Capillarys™2 Flex Piercing检测HbA1c不受carHb的干扰,而Variant Ⅱ turbo 2.0可能由于carHb的干扰会引起HbA1c假性增高。

关键词:糖化血红蛋白; 氨基甲酰血红蛋白; 慢性肾脏疾病; 2型糖尿病; 毛细管电泳法; 离子交换高压液相色谱法; 硼酸亲和层析法
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.15.031 **中图法分类号:**R446.1
文章编号:1673-4130(2018)15-1899-03 **文献标识码:**B

糖化血红蛋白(HbA1c)已经被广泛认为是评估糖尿病控制的金标准,其与糖尿病并发症风险之间的关系已得到证实。2010年美国糖尿病协会(ADA)已经将HbA1c推荐为糖尿病的诊断指标,HbA1c≥

* 基金项目:上海市闵行区卫生和计划生育委员会基金(2014MW04)。
△ 通信作者,E-mail:dachun20040613@126.com。
本文引用格式:贺乐奇,沈芳,李鹏,等.氨基甲酰血红蛋白对3种糖化血红蛋白检测方法干扰研究[J].国际检验医学杂志,2018,39(15):1899-1901.

6.5%作为糖尿病的诊断指标之一[1]。慢性肾脏疾病(CKD)患者血液中氨基甲酰血红蛋白(carHb)会有不同程度的增高,尤其终末期时血液中尿素氮浓度升高明显,尿素氮在体内分解为异氰酸,血红蛋白β链N末端的缬氨酸与异氰酸通过非酶促化合反应生成carHb,carHb与HbA1c有相似的等电点,可能干扰HbA1c的分离和定量[2]。本文使用3种方法即毛细管电泳法、离子交换高压液相色谱法和硼酸亲和层析法检测规律进行血液透析治疗的CKD5期患者的HbA1c,以评估适合此类患者的HbA1c检测方法。

1　资料与方法

1.1　一般资料　收集2015年6月到2016年2月在上海市第五人民医院进行血液透析治疗的CKD5期患者92例,患者每周都进行2～3次的血液透析治疗,每次3～4 h。将日常检测剩余的EDTA-K2抗凝血分装后保存于−80 ℃用于研究分析。患者年龄范围是42～85岁,男女比例是0.96∶1,依据有无T2DM分为2组,其中合并有T2DM的31例,无T2DM的61例,两组年龄间差异无统计学意义($P>0.05$),两组间尿素氮数据比较差异无统计学意义($P>0.05$),但两组间空腹血糖差异有统计学意义($P<0.001$),见表1。2型糖尿病和CKD诊断由肾内科医生完成。本研究通过了上海市第五人民医院伦理委员会的审批。

表1　一般资料

分组	n	性别比(男∶女)	年龄(岁)	BUN(mmol/L)	GLU(mmol/L)
CKD5期合并T2DM组	31	17∶14	68±9	26.7±10.0	9.3±5.1
CKD5期无T2DM组	61	28∶33	64±11	27.6±5.7	5.5±1.6*

注:与CKD5期合并T2DM组比较,* $P<0.05$

1.2　仪器与试剂　使用以下分析仪及原装试剂检测样本HbA1c:Sebia Capillarys™2 Flex Piercing型(法国赛比亚公司,分析范围是4.0%～14.7%,属毛细管电泳法),Variant Ⅱ Turbo 2.0型(美国伯乐公司,分析范围是1.6%～19.3%,属离子交换高效液相色谱法),Primus Ultra2型(美国Primus公司,分析范围是3.8%～18.0%,属硼酸亲和层析法)。尿素氮和空腹血糖检测使用生化分析仪Cobas8000型(瑞士罗氏公司)检测。

1.3　方法　将−80 ℃保存EDTA-K2抗凝血标本室温平衡后使用上述3种方法检测HbA1c,记录结果。收集同期患者检测的尿素氮和空腹血糖结果。已有研究证实硼酸亲和层析法不受carHb干扰,故将Primus Ultra2作为参比方法[3]。

1.4　统计学处理　年龄、尿素氮和空腹血糖数据比较使用两样本t检验。$\bar{x}\pm s$用来对HbA1c进行统计描述。以不同的HbA1c测量方法(Sebia Capillarys™2 Flex Piercing、Variant Ⅱ Turbo 2.0、Primus Ultra2)作为重复测量的单位,广义估计方程用来分析不同测量方法之间的差异,作业相关矩阵设为复对称相关结构。进一步计算HbA1c的最小二乘均数,并以Primus Ultra2作为对照组进行多重比较[3],Dunnett法用来控制多重比较所导致的Ⅰ型错误。二组之间P值小于0.05为差异有统计学意义,二组之间HbA1c测量值差异大于±7%为有临床意义[4-5]。使用统计软件SAS 9.4和SPSS16.0进行统计分析。

2　结　　果

2.1　两组患者3种方法检测　测得HbA1c结果均值和标准差见表2。

表2　3种检测方法HbA1c结果和标准差(%)

检测仪器	CKD4*2期合并T2DM(n=31)		CKD5期无T2DM(n=61)	
	均值	标准差	均值	标准差
Sebia Capillarys™2 Flex Piercing	6.80	0.16	5.12	0.04
Variant Ⅱ turbo 2.0	6.72	0.12	5.27	0.03
Primus Ultra2	6.81	0.15	5.11	0.03

2.2　3种检测方法HbA1c数据间的比较　CKD5期合并T2DM组中,Variant Ⅱ turbo 2.0和Sebia Capillarys™2 Flex Piercing HbA1c检测结果分别与参比方法结果比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表3。CKD5期无T2DM组中,Variant Ⅱ turbo 2.0 HbA1c检测结果与参比方法比较差异有统计学意义($P<0.001$),其差异为15.48%,差异有临床意义。Sebia Capillarys™2 Flex Piercing HbA1c检测结果与参比方法比较,差异无统计学意义($P=0.82$),见表3。

表3　3种检测方法HbA1c结果比较(%)

检测仪器	CKD5期合并T2DM(n=31)		CKD5期无T2DM(n=61)	
	差值(95%可信区间)	P	差值(95%可信区间)	P
Sebia Capillarys™2 Flex Piercing	−0.50(−6.17～5.17)	0.86	0.39%(−2.96～3.75)	0.82
Variant Ⅱ turbo 2.0	−8.71(−20.15～2.72)	0.14	15.48%(10.69～20.26)	<0.001

3　讨　　论

HbA1c常用的检测方法有:电泳法、色谱法、免疫分析法和酶法;其中色谱法中有离子交换高压液相色谱法和硼酸亲和层析法。所有的方法都可能会被不同的干扰因素干扰,如血红蛋白修饰产物、变异血红蛋白、贫血及溶血等[6-7]。

关于carHb对HbA1c检测方法影响的研究已有开展,但本研究所选病例均为规律血液透析的CKD5患者,对此类患者血液中尿素氮浓度较其他分期患者更高,由于氨基甲酰化率与尿素氮的浓度和暴露的时间相关[8],同时血液透析可增快氨基甲酰化的速度[9],本研究中虽没有直接检测carHb的浓度,但根

据文献研究提示本研究对象的血液标本中 carHb 浓度较其他分期患者高,选取此类患者作为研究对象更有利于观察 carHb 对 HbA1c 检测方法的影响。本研究以是否合并 2 型糖尿病来分组,目的是排除因糖尿病引起的 HbA1c 的增高而掩盖 carHb 干扰导致的 HbA1c 结果的假性增高。

本研究通过将 Sebia CapillarysTM2 Flex Piercing 与参比方法检测结果比较发现其不受 carHb 的影响,差异均无统计学差异。此结果和先前的研究相一致[10-11]。将 Variant Ⅱ turbo 2.0 与参比方法检测结果比较发现,在无 T2DM 的 CKD5 期组,差异有统计学意义和临床意义,而在合并 T2DM 组中则无统计学意义。Variant Ⅱ turbo 2.0 的研究结果和先前的研究不一致[12-14],可以从以下几方面进行分析:首先本研究样本均来自 CKD5 期进行血液透析的患者,样本来源与其他研究不同[12-14];其次 carHb 与 HbA1c 有相似的等电点,可以对基于离子交换原理的 Variant Ⅱ turbo 2.0 造成干扰,由于等电点接近,可能会同 HbA1c 一起被洗脱,引起假性增高;而在合并有 T2DM 的 CKD5 期组中 carHb 对 Variant Ⅱ turbo 2.0 干扰造成的 HbA1c 的假性增高可能被由血糖升高引起的 HbA1c 的增高所掩盖。这可以解释为什么合并 T2DM 的 CKD5 期组 Variant Ⅱ turbo 2.0 与参比方法比较无统计学意义,而无 T2DM 的 CKD5 期组则有统计学意义和临床意义。最后,由于标本来源受限,合并有 T2DM 的 CKD5 期组只有 31 例标本,这也有可能影响统计结果。

目前,病理状态下 HbA1c 使用仍存在争议,在病理状态下检测 HbA1c 可能会被干扰,从而影响临床诊疗。由于肾脏疾病复杂的病理过程,在对 HbA1c 结果的阐释时,应考虑检测方法间的差异,同时也要综合其他因素考虑,如红细胞寿命的缩短、缺铁性贫血、HbA1c 生成速度、输血和促红细胞生成素的使用等。此外,其他检测如糖化白蛋白和果糖胺也可作为评估指标[15-16]。

4 结 论

HbA1c 的常规检测中各种检测方法都可以提供有效的结果,但对于 CKD5 期患者,Sebia Capillarys2 Flex Piercing 检测 HbA1c 不受 carHb 的干扰,而 Variant Ⅱ turbo 2.0 可能由于 carHb 的干扰会引起 HbA1c 假性增高,对于此类人群,推荐采用硼酸亲和层析和毛细管电泳法检测 HbA1c。

参考文献

[1] American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes[J]. Diabetes Care,2015,38(Suppl 1):S8-16.

[2] JAISSON S,PIETREMENT C,GILLERY P. Carbamylation-derived products:bioactive compounds and potential biomarkers in chronic renal failure and atherosclerosis [J]. Clin Chem,2011,57(14):1499-1505.

[3] MORGAN L J,MARENAH C B,MORGAN A G,et al. Glycated haemoglobin and fructosamine in non-diabetic subjects with chronic renal failure [J]. Nephrol Dial Transplant,1990,5(8):868-873.

[4] LIN C N,EMERY T J,LITTLE R R,et al. Effects of hemoglobin C,D,E,and S traits on measurements of HbA1c by six methods[J]. Clin Chim Acta,2012,413(8):819-821.

[5] WEYKAMP C W,MOSCA A,GILLERY P,et al. The analytical goals for hemoglobin A(1c) measurement in IFCC units and National Glycohemoglobin Standardization Program Units are different[J]. Clin Chem,2011,57 (12):1204-1206.

[6] SACKS D B,ARNOLD M,BAKRIS G L,et al. Executive summary:guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus[J]. Clin Chem,2011,57(7):793-798.

[7] LITTLE R R,ROBERTS W L. A review of variant hemoglobins interfering with hemoglobin A1c measurement [J]. J Diabetes Sci Technol,2009,3(4):446-451.

[8] STIM J,SHAYKH M,ANWAR F,et al. Factors determining hemoglobin carbamylation in renal failure[J]. Kidney Int,1995,48(16):1605-1610.

[9] SMITH W G,HOLDEN M,BENTON M,et al. Glycosylated and carbamylated haemoglobin in uraemia[J]. Nephrol Dial Transplant,1989,4(1):96-100.

[10] JAISSON S,LEROY N,MEURICE J,et al. First evaluation of Capillarys 2 Flex Piercing(R) (Sebia) as a new analyzer for HbA1c assay by capillary electrophoresis [J]. Clin Chem Lab Med,2012,50(17):1769-1775.

[11] WEYKAMP C,WAENINK-WIEGGERS H,KEMNA E, et al. HbA1c:performance of the Sebia Capillarys 2 Flex Piercing[J]. Clin Chem Lab Med,2013,51(2):129-131.

[12] LITTLE R R,ROHLFING C L,TENNILL A L,et al. Measurement of Hba(1C) in patients with chronic renal failure[J]. Clin Chim Acta,2013,418(1):73-76.

[13] LI Q,JU Y,JIN T,et al. Haemoglobin A1c measurement in patients with chronic kidney disease[J]. Clin Biochem, 2014,47(4):481-484.

[14] DOLSCHEID-POMMERICH R C,KIRCHNER S,WEIGEL C,et al. Impact of carbamylation on three different methods,HPLC,capillary electrophoresis and TINIA of measuring HbA1c levels in patients with kidney disease [J]. Diabetes Res Clin Pract,2015,108(1):15-22.

[15] FREEDMAN B I,ANDRIES L,SHIHABI ZK,et al. Glycated albumin and risk of death and hospitalizations in diabetic dialysis patients[J]. Clin J Am Soc Nephrol,2011, 6(16):1635-1643.

[16] SELVIN E,RAWLINGS A M,GRAMS M,et al. Fructosamine and glycated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications:a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study[J]. Lancet Diabetes Endocrinol,2014,2(3):279-288.

(收稿日期:2017-12-24 修回日期:2018-02-14)