

血红蛋白 A₂ 和 F 的室间质量评价结果分析*

何法霖, 王 薇, 钟 瑩, 王治国 (卫生部北京医院 卫生部临床检验中心, 北京 100730)

摘要:目的 评价中国部分珠蛋白生成障碍性贫血筛查实验室检测血红蛋白 A₂ 和 F 的水平和现状。方法 向 50 家珠蛋白生成障碍性贫血实验室发放两个批号的质控品, 收集实验室回报的 HbA₂ 和 HbF 检测值, 对回报的结果按照方法分组进行统计分析, 并评价其检测水平。结果 49 家实验室回报了检测结果, 回报率为 98%。HbA₂ 的及格率为 42.9%~92.3%, HbF 的及格率为 27.3%~84.6%。通过稳健 Z 比分数统计, 血红蛋白 HbA₂ 项目 201311 批号样本有 3 家实验室检测结果为不满意, 201312 批号样本有 4 家实验室检测结果为不满意, 血红蛋白 HbF 项目 201311 批号样本有 5 家实验室检测结果为不满意, 201312 批号样本有 3 家实验室检测结果为不满意。结论 我国珠蛋白生成障碍性贫血筛查实验室检测 HbA₂ 和 HbF 质量有待进一步提高。

关键词:室间质量评价; 血红蛋白 A₂; 血红蛋白 F; 质量控制; 地中海贫血

中图分类号: R446 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)02-156-04

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-7414. 2015. 02. 050

External Quality Assessment of Hemoglobin A₂(HbA₂) and Hemoglobin F(HbF) Measurement

HE Fa-lin, WANG Wei, ZHONG Kun, WANG Zhi-guo (Beijing Hospital of
Ministry of Health, National Center for Clinical Laboratories, Beijing 100730, China)

Abstract: **Objective** To evaluate hemoglobin A₂ and F (HbA₂ and HbF) assays in part of Thalassemia screening laboratories in China. **Methods** Two lots of controls were sent to 50 Thalassemia screening laboratories. Test results of HbA₂ and HbF were collected, analyzed and evaluated by different method groups. **Results** 49 of all laboratories reported the results and the rate of return was 98%. The proportion of laboratories reporting acceptable results for HbA₂ and HbF testing was 42.9%~92.3% and 27.3%~84.6% respectively. HbA₂ test results from 3 laboratories for Lot 201311 and 4 for 201312 were unsatisfactory. And HbF test results from 5 laboratories for Lot 201311 and 3 for 201312 were unsatisfactory. **Conclusion** Conclude that quality in the measurement of HbA₂ and HbF should be improved.

Keywords: external quality assessment; hemoglobin A₂; hemoglobin F; quality control; thalassemia

血红蛋白 A₂ 和 F 检测已经成为珠蛋白生成障碍性贫血筛查的重要手段。珠蛋白生成障碍性贫血是全世界广为流行的遗传性溶血疾病, 全世界至少有 3 亿多人携带此致病基因。这些基因携带者主要分布于东南亚、印度次大陆、地中海地区、中东、北非和太平洋地区。我国的携带者主要分布于广西、广东、海南、香港、四川、贵州、湖南、江西、云南等地区, 其中广西为该病最高发病区^[1]。珠蛋白生成障碍性贫血为家庭、社会带来严重的医疗、经济困难, 从而成为重要的公共卫生问题。异常血红蛋白 A₂ 和 F 检测定量结果影响临床诊断, 因此检测结果准确性显得尤为重要。目前, 国内开展珠蛋白生成障碍性贫血血红蛋白检测的主要单位共计 100 多家, 采用的方法学主要为高效液相(HPLC)、琼脂糖电泳和毛细管电泳等, 这些检测方法在国际上也被采用。鉴于此, 卫生部临床检验中心开展血红蛋白 A₂ 和 F 室间质量评价, 选取部分开展珠蛋白生成障碍性贫血检测的实验室进行质量评价。

1 材料与方法

1.1 室间质量评价对象 选取 50 家开展珠蛋白生成障碍性贫血的实验室, 其中三级医院 35 家, 二级医院 13 家, 独立实验室 2 家。

1.2 室间质量评价的递送和批号 通过特快专递方式向参加实验室邮寄不同浓度(批号: 201311, 201312)冻干粉末质控品, 质控品由美国伯乐公司提供。

1.3 样本处理方法及回报结果注意事项 质评物须在 2~8℃ 条件下保存, 使用时将质评物从冰箱中取出, 用 0.5 ml 蒸馏水或去离子水复溶, 在室温放置 10 min, 轻轻旋转待完全溶解后检测。将质评物当作病人标本进行测定, 结果填入对应批号回报表中。回报结果的同时回报测定方法、仪器和试剂名称。

1.4 统计学分析 各检测项目按方法分组以中位数作为靶值, 评价限为: 靶值 ± 20%, 采用 SPSS13.0 版软件计算各实验室的及格率。同时采用稳健统计方法进行统计, 即利用四分位数稳健统计方法处理结果来计算稳健的 Z 比分数, 即稳健 Z

* 作者简介: 何法霖(1981-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事临床检验实验室质量管理与控制, Tel: 010-58115056, E-mail: hefalin@126.com。

$=(\text{你室结果}-\text{靶值})/0.741\ 3\text{IQR}$,式中 IQR 为四分位间距。将两批号样本稳健 Z 比分数用 Excel 作图比较其结果的离散程度。 $|Z|<2$,表示该实验室检测结果满意; $2<|Z|<3$,表示该实验室检测结果有问题; $|Z|>3$,表示该实验室结果不满意。

2 结果

2.1 回报率 参与室间质量评价的 50 家实验室中有 49 家按时回报结果,有 1 家二级医院没有回报,回报率 98%。

2.2 不同检测方法变异系数(CV) 按不同方法分组 CV 分布在 5.51%~81.79%之间。201311 批号 HbA2 项目毛细管电泳法的变异系数最小,琼脂糖电泳组 CV 最大;HbF 项目高效液相法组 CV 最小,琼脂糖电泳组 CV 最大。201312 批号 HbA2 项目高效液相法组 CV 最小,毛细管电泳法的 CV 最大;HbF 项目高效液相法组 CV 最小,琼脂糖电泳组的 CV 最大,见表 1。

2.3 不同仪器变异系数(CV) 按不同仪器分组 CV 分布在 3.89%~258.02%之间。201311 批号 HbA2 项目 sebia capillarys 组的 CV 最小,美国海

伦娜电泳仪 spife combo 组 CV 最大;HbF 项目 sebia capillarys 组的 CV 最小,全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant II 组 CV 最大。201312 批号 HbA2 项目美国海伦娜电泳仪 spife combo 组 CV 最小,全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant 组 CV 最大;HbF 项目伯乐 Variant II 仪器组 CV 最小,美国海伦娜电泳仪 spife 2000 仪器组 CV 最大,见表 2。

2.4 试剂分组统计变异系数(CV) 使用不同试剂检测不同批号不同项目时 CV 差异很大, CV 分布在 14.84%~268.33%之间。调查表明大部分实验室使用配套的检测试剂有少部分实验室使用的不配套的检测试剂。见表 3。

2.5 及格率 按照方法学分组计各组及格率,其中 HbA2 项目及及格率在 42.9%~100%之间, HbF 项目及及格率在 27.3%~100%之间,而只有一家实验室使用醋酸纤维膜电泳法,因此该组结果没有太大意义。见表 4。

2.6 HbA2, HbF 稳健 Z 比分数 每一批号每一检测项目都有几家实验室 $|Z|>3$,即检测结果不满意,见图 1、图 2、图 3、图 4。

表 1

按方法学分组结果统计

项目	样本编号	方法	实验室数	平均数	中位数	标准差	变异系数(%)	最大值	最小值
HbA2	201311	所有方法	39	2.65	2.6	0.21	7.92	3.1	2.1
		高效液相色谱法	24	2.62	2.6	0.19	7.25	3.1	2.4
		毛细管电泳法	8	2.72	2.78	0.15	5.51	2.9	2.5
		琼脂糖电泳法	13	2.89	2.66	1.28	44.29	6.09	1.03
		醋酸纤维膜电泳	1	1.8					
	201312	所有方法	38	5.31	5.3	0.34	6.4	6.2	4.5
		高效液相色谱法	23	5.33	5.3	0.3	5.63	6.2	4.9
		毛细管电泳法	8	6.18	5.41	1.43	23.14	8.69	5.2
		琼脂糖电泳法	13	4.96	5.03	0.91	18.35	6.83	3.5
		醋酸纤维膜电泳	1	4					
HbF	201311	所有方法	41	1.6	1.9	0.6	37.5	2.97	0.4
		高效液相色谱法	22	1.99	2	0.11	5.53	2.2	1.7
		毛细管电泳法	7	1.02	1.2	0.48	47.06	1.5	0.4
		琼脂糖电泳法	11	1.52	1.12	1.2	78.95	4.45	0.48
		醋酸纤维膜电泳	1	1.52					
	201312	所有方法	31	9.31	9.2	0.54	5.8	10.7	8.12
		高效液相色谱法	23	9.32	9.3	0.45	4.83	10.4	8.4
		毛细管电泳法	8	9.88	9.6	2.98	30.16	13.99	4.73
		琼脂糖电泳法	10	17.68	9.17	14.46	81.79	38.66	3.03
		醋酸纤维膜电泳	1	31.7					

3 讨论 血红蛋白 A2 和 F 室间质量评价结果表明不同检测方法在检测 HbA2 和 HbF 时, CV 差异较大。目前国内检测 HbA2 和 HbF 的实验室大部分都采用高效液相色谱法、毛细管电泳法以及琼脂糖凝胶法,只有少数实验室采用的是醋酸纤维膜电泳法。据市场调查广西壮族自治区血红蛋白的检测技术主要是毛细管电泳法和高效液相色谱法,毛细管电泳法所占的比例为 85%,其中琼脂糖凝胶法高达 70%左右,高效液相色谱法的单位占 15%。目前国内有很多关于不同方法检测血红蛋白的文献^[2~5]。国外也有学者研究全自动毛细管电泳法和高效液相电泳法在分离不同的血红蛋白时的差

异^[6]。在调查过程中,我们也发现不同方法分离样本的效果不一样。一方面可能是方法差异,另一方面是质控品不是新鲜样本没有互换性,所以按照方法学分组并分别定靶值是合理的。虽然使用琼脂糖凝胶法的医院较多,但是本次调查发现琼脂糖凝胶法在检测 HbF 和低值 HbA2 时 CV 都最大,而毛细管电泳组和高效液相色谱组的 CV 相对较小,通过与检测人员电话交流,发现许多实验室对于血红蛋白区带没有准确区分,导致定量差异很大。另外,从仪器、试剂分组统计结果看,即使同一种方法使用不同仪器的检测结果 CV 也不一样,这可能与人员操作、检测试剂不配套、仪器性能有关。

表 2 按仪器分组结果统计

项目	样本编号	仪器	实验室数	平均数	中位数	标准差	变异系数(%)	最大值	最小值
HbA2	201311	所有仪器	49	4.16	2.60	10.50	252.40	76.00	0.60
		全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant II	21	2.61	2.60	0.24	9.20	3.40	2.40
		全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant	4	2.30	2.75	1.15	50.00	3.10	0.60
		美国海伦娜电泳仪 spife 3000	5	2.39	2.66	0.78	32.64	2.94	1.03
		美国海伦娜电泳仪 spife combo	4	21.50	3.75	36.34	169.02	76.00	2.50
		美国海伦娜电泳仪 spife 2000	3	4.14	3.48	1.71	41.30	6.09	2.86
		sebia capillarys LC	2	2.35	2.35	0.35	14.89	2.60	2.10
		sebia capillarys 2	5	2.72	2.80	0.13	4.78	2.80	2.50
		sebia capillarys	2	2.83	2.83	0.11	3.89	2.90	2.75
		sebia HYDRAGELSYS PN1210	2	1.90	1.90	0.00	0.00	1.90	1.90
		HYRYS-SEBIA 扫描仪	1	1.80					
	201312	所有仪器	49	6.02	5.30	2.96	49.17	19.97	3.50
		全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant II	21	6.00	5.33	2.91	48.50	18.60	4.90
		全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant	4	9.14	5.75	7.23	79.10	19.97	5.10
		美国海伦娜电泳仪 spife 3000	5	5.50	5.30	1.04	18.91	6.83	4.03
		美国海伦娜电泳仪 spife combo	4	5.37	5.28	0.37	6.89	5.89	5.03
		美国海伦娜电泳仪 spife 2000	3	6.56	5.55	2.62	39.94	9.54	4.60
		sebia capillarys LC	2	4.25	4.25	1.06	24.94	5.00	3.50
		sebia capillarys 2	5	5.82	5.20	1.33	22.85	8.20	5.20
		sebia capillarys	2	7.10	7.10	2.26	31.83	8.69	5.50
		sebia HYDRAGELSYS PN1210	2	4.10	4.10	0.57	13.90	4.50	3.70
		HYRYS-SEBIA 扫描仪	1	4.00					
HbF	201311	所有仪器	44	5.08	1.90	16.49	324.61	97.87	0.40
		全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant II	21	4.55	2.00	11.74	258.02	55.80	1.50
		全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant	4	25.84	1.90	48.02	185.84	97.87	1.70
		美国海伦娜电泳仪 spife 3000	3	1.74	1.43	1.10	63.22	2.97	0.83
		美国海伦娜电泳仪 spife combo	4	0.70	0.64	0.33	47.14	1.12	0.41
		美国海伦娜电泳仪 spife 2000	2	2.48	2.48	2.79	112.50	4.45	0.51
		sebia capillarys LC	2	1.45	1.45	0.64	44.14	1.90	1.00
		sebia capillarys 2	5	0.96	0.80	0.44	45.83	1.50	0.40
		sebia capillarys	2	1.35	1.35	0.21	15.56	1.50	1.20
		sebia HYDRAGELSYS PN1210	1	1.20					
	201312	所有仪器	45	11.86	9.30	8.12	68.47	38.66	3.03
		全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant II	21	9.33	9.30	1.06	11.36	12.00	5.80
		全自动血红蛋白分析仪伯乐 Variant	4	10.43	9.60	2.52	24.16	14.10	8.40
		美国海伦娜电泳仪 spife 3000	4	14.42	9.17	13.63	94.52	34.62	4.73
		美国海伦娜电泳仪 spife combo	3	6.06	6.71	2.45	40.43	8.12	3.35
		美国海伦娜电泳仪 spife 2000	2	20.85	20.85	25.19	120.82	38.66	3.03
		sebia capillarys LC	2	21.10	21.10	17.25	81.75	33.30	8.90
		sebia capillarys 2	5	10.18	9.10	2.02	19.84	13.50	8.80
		sebia capillarys	2	12.05	12.05	2.75	22.82	13.99	10.10
		sebia HYDRAGELSYS PN1210	1	29.90					
		HYRYS-SEBIA 扫描仪	1	31.70					

表 3 按试剂分组结果统计

项目	样本编号	试剂	实验室数	平均数	中位数	标准差	变异系数(%)	最大值	最小值
HbA2	201311	所有试剂	49	4.16	2.60	10.50	252.40	76.00	0.60
		伯乐	24	2.56	2.60	0.49	19.14	3.40	0.60
		海伦娜	11	9.77	2.86	22.00	225.18	76.00	1.03
		sebia	12	2.56	2.73	0.38	14.84	2.94	1.90
		其它	2	2.20	2.20	0.57	25.91	2.60	1.80
	201312	所有试剂	49	6.02	5.30	2.96	49.17	19.97	3.50
		伯乐	24	6.55	5.37	3.95	60.31	19.97	4.90
		海伦娜	11	5.62	5.30	1.41	25.09	9.54	4.03
		sebia	12	5.57	5.20	1.59	28.55	8.69	3.50
		其它	2	4.70	4.70	0.99	21.06	5.40	4.00
	201311	所有试剂	44	5.08	1.90	16.49	324.61	97.87	0.40
		伯乐	24	8.21	2.00	22.03	268.33	97.87	1.50
		海伦娜	8	1.52	0.96	1.45	95.39	4.45	0.41
		sebia	11	1.13	1.20	0.42	37.17	1.90	0.40
		其它	1	2.00					
HbF	201312	所有试剂	45	11.86	9.30	8.12	68.47	38.66	3.03
		伯乐	24	9.51	9.30	1.41	14.83	14.10	5.80
		海伦娜	8	13.56	7.42	14.45	106.56	38.66	3.03
		sebia	11	14.20	10.10	8.83	62.18	33.30	8.80
		其它	2	20.50	20.50	15.84	77.27	31.70	9.30

在计算及格率时,美国病理家学会(CAP)采用中位数±3s,而本次结果显示,标准差相当大,所以本研究按方法学分组以 20%的允许总误差作为评判标准,HbA2 的及格率为 42.9%~100%,HbF

的及格率为 27.3%~100%。通过稳健 Z 比分数统计,批号 201311 样本有 3 家实验室 HbA2 检测结果为不满意,有 5 家实验室 HbF 检测结果为不满意。201312 批号样本有 4 家实验室 HbA2 检测

结果为不满意,有3家实验室 HbF 检测结果为不满意。从本次结果看,实验室检测 HbA2 和 HbF 的水平差异很大。

表4 检测项目 HbA2 与 HbF 的及格率[% (n)]

项目	批号	高效液相	毛细管电泳	琼脂糖电泳	其他
HbA	2201311	92.3(24/26)	100.0(8/8)	42.9(6/14)	100.0(1/1)
	2201312	88.5(23/26)	75.0(6/8)	64.3(9/14)	100.0(1/1)
HbF	2201311	84.6(22/26)	28.6(2/7)	27.3(3/11)	
	2201312	88.5(23/26)	62.5(5/8)	30.0(3/10)	100.0(1/1)

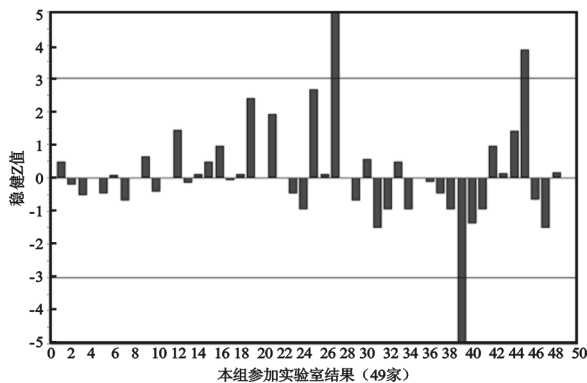


图1 HbA2 项目 201311 批号稳健 Z 比分数图

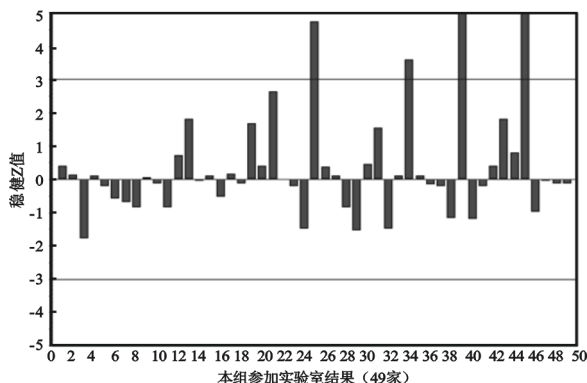


图2 HbA2 项目 201312 批号稳健 Z 比分数图

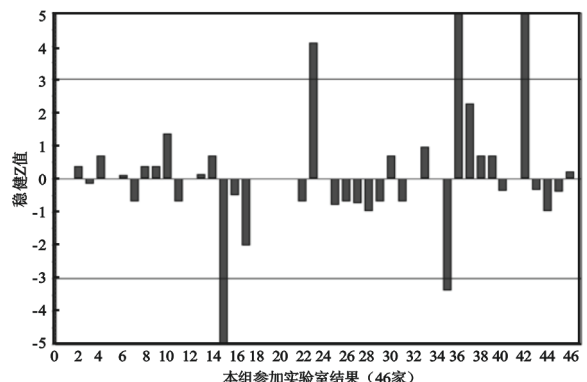


图3 HbF 项目 201311 批号稳健 Z 比分数图

HbA2 和 HbF 的筛查已经成为珠蛋白生成障碍性贫血病筛查的一个主要技术,其定量的准确性影响临床诊断结果。结果不准确常导致临床假阳性、甚至假阴性判定,以致引发医疗纠纷。目前大部分实验室的兴趣点往往集中在购买新设备和开展新项目上,而忽略了质量控制。室间质量评价作为一种质量控制有效工具可以识别实验室间的差

异,评价实验室的检测能力,实验室可通过分析室间质量评价的结果,采取相应措施提高检验质量。

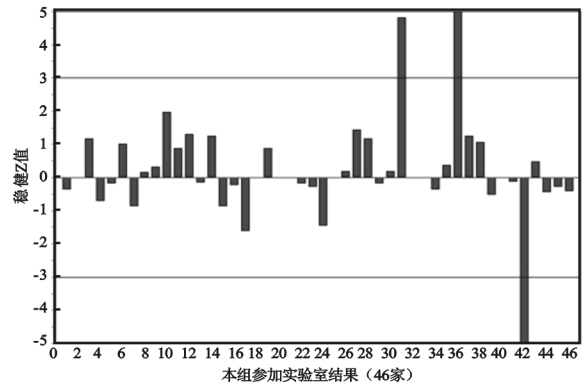


图4 HbF 项目 201312 批号稳健 Z 比分数图

另外,按照《医疗机构临床实验室管理办法》的要求,临床实验室应当参加经卫生部认定的室间质量评价机构组织的临床检验室间质量评价,因此,实验室应重视室间质量评价,加强实验室质量管理,进一步提高检测 HbA2 和 HbF 的质量水平。

参考文献:

- [1] 熊 符,孙曼娜,姜季武,等. 广西壮族自治区人群血红蛋白病的分子流行病学调查[C]. Xiong F, Sun MN, Lou JW, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in Guangxi Zhuang Autonomous region[C].
- [2] 郑 琳,黄海龙,范向群,等. 高效液相色谱技术检测β-珠蛋白生成障碍性贫血的临床价值探讨[J]. 中国妇幼保健,2011,11:1165-1166. Zheng L, Huang HL, Fan XQ, et al. Exploration on the clinical value of high performance liquid chromatography in detection of β-thalassemia[J]. Maternal Child Health Care of China, 2011, 26(11):1165-1166.
- [3] 张春荣. 全自动蛋白电泳系统在筛查β珠蛋白生成障碍性贫血 1913 例中的应用[J]. 广西医学, 2008, 30(12):1866-1867. Zhang CR. Guangxi Medical Journal, 2008, 30(12):1866-1867.
- [4] 卢业成,郑师陵,肖艳华,等. 全自动多通道毛细管区带电泳技术在血红蛋白分析中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(7):675-676, 679. Lu YC, Zheng SL, Xiao YH, et al. Clinical application of fully automated multicapillary zone electrophoresis in hemoglobin analysis[J]. Inter J Lab Med, 2009, 30(7):675-676, 679.
- [5] 陈 星,卢业成,初德强,等. 全自动毛细管电泳与琼脂糖电泳检测血红蛋白的比较[J]. 广东医学, 2009, 30(5):778-780. Chen X, Lu YC, Chu DQ, et al. Automatic capillary electrophoresis with agarose electrophoresis detection of hemoglobin[J]. Guangdong Medical Journal, 2009, 30(5):778-780.
- [6] Keren DF, Hedstrom D, Gulbranson R, et al. Comparison of sebia capillary electrophoresis with the primus high-pressure liquid chromatography in the evaluation of hemoglobinopathies[J]. Am J Clin Pathol, 2008, 130(5):824-831.

收稿日期:2014-04-05

修回日期:2015-01-23