

## • 检验技术与方法 •

## 胶乳增强免疫比浊法在甲胎蛋白测定的方法学评价\*

陆晓荣<sup>1</sup>, 吴 钢<sup>1</sup>, 郝渭滨<sup>1</sup>, 王履洁<sup>2</sup>, 许小鹏<sup>3</sup>

(1. 江苏省常州市疾病预防控制中心预防门诊部 213000; 2. 江苏省常州市钟楼区疾病预防控制中心检验科 213000; 3. 江苏省常州市第一人民医院检验科 213000)

**摘要:**目的 对胶乳增强免疫比浊法(LEIA法)测定甲胎蛋白(AFP)水平,并进行方法学评价。方法 用LEIA法测定178例血清的AFP水平,同时采用化学发光免疫分析仪法(CLIA法)对AFP水平进行测定。结果 LEIA法测定AFP的灵敏度为0.65 ng/mL,低、中、高水平的批内CV分别为0.98%、0.92%、0.89%;批间CV分别为1.63%、1.53%、1.45%。回收率96.3%~102.9%。结论 LEIA法是测定AFP较好的方法,适合普及推广。

**关键词:**甲胎蛋白; 评价研究; 胶乳增强免疫比浊法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)10-1106-02

甲胎蛋白(AFP)是人类认识较早的有价值的肝癌和生殖细胞瘤肿瘤标志物,1963年由Ahelev发现,1964年Tartarinow发现原发性肝癌(PHC)患者的血清AFP水平升高。研究证明,AFP是原发性肝细胞肝癌的重要标志物<sup>[1-2]</sup>。临床常规检测血清AFP主要采用放射免疫测定(RIA法)、酶联免疫吸附实验(ELISA法)、化学发光法(CLEIA法)等<sup>[3-7]</sup>。作者引进日本电化生研胶乳增强免疫比浊法(LEIA法)试剂,应用于生化分析仪检测AFP水平,取得了理想的效果,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2009年6月至2010年6月本体检中心体检人员4565例,其中男1887例,女2678例;平均年龄37.8岁。受试者均取静脉血2 mL,分离血清, -20℃冰箱保存备用。

**1.2 仪器及试剂** 奥林巴斯AU640全自动生化分析仪、试剂、日本电化生研胶乳LEIA试剂由上海盈科医学生物科技有限公司提供。化学发光免疫分析仪法(CLIA法)检测仪器为美国Beckman Coulter Access2免疫分析系统及配套试剂,由上海海尔斯诊断产品有限公司提供。

**1.3 方法** LEIA法(Latex)按仪器操作规程和试剂说明书进行测定。样品与吸附AFP抗体的胶乳(Latex)粒子作用,样品中的AFP与吸附抗体的Latex粒子发生特异的抗原抗体反应,使Latex粒子发生凝集反应。该凝集反应的吸光度变化与样品中AFP的水平相关。用已知水平的标准品制作工作曲线,依据该曲线即可求得样品中AFP的水平。试剂组成:缓冲液(R1);胶乳(Latex)悬浮液(R2)。产品注册证号:国食药监械(进)字2006第3400961(更)号。上机参数为样本体积:25.0 μL, R1体积:140.0 μL, R2体积:70.0 μL;波长:570 nm;方法:固定点法;测定点:13、19。CLIA法按仪器操作规程和试剂说明书进行测定。

**1.4 统计学处理** 2组间数据采用t检验,阳性率比较采用 $\chi^2$ 检验。

## 2 结 果

**2.1 灵敏度** 重复测定水样本20次,空白吸光度变化率( $\Delta E/\min$ )在(0±3)mAbs范围内。(±2s)所对应的水平为最低检测值。LEIA法测得AFP灵敏度为0.65 ng/mL。检测下限:在低值范围测定精密度良好。

**2.2 精密度测试** 批内精密度:取低、中、高值的混合血清,同批重复测定20次,计算变异系数CV,低、中、高值批内CV

分别为0.98%、0.92%、0.89%;批间精密性CV取低、中、高值的混合血清,不同批重复测定20次,计算变异系数CV,低、中、高值批间分别为1.63%、1.53%、1.45%。

**2.3 线性** AFP的线性为0~250 ng/mL。健康成年人血清中AFP低于10 ng/mL;而良性的肝脏疾病如肝炎、肝硬化患者,血清AFP也升高,但95%小于200 ng/mL,高水平的AFP常见于预后不良的肝癌。电化生研AFP试剂的线性范围能够满足常规工作的需要。

**2.4 准确性测试** 将不同AFP水平的混合血清以1:2~1:64稀释后作LEIA法测定,测得回收率96.3%~102.9%。取400 ng/mL的原AFP标准血清,对被稀释为200、100、50、25、12.5、6.25 ng/mL回收率测定。通过回归分析,LEIA法的回归方程为 $Y=0.11X+0.093$ ,表明AFP名义值与回收值相关良好。

**2.5 LEIA法与CLIA法相关性** 对26例血清标本和健康体检人群100例标本分别用LEIA法与CLIA法测定血清AFP水平,相关性良好,相关系数到0.997。

**2.6 干扰实验** 总胆红素、三酰甘油、血红蛋白分别加入混合血清中,以观察其对血清AFP测定的影响。总胆红素小于171 μmol/L、三酰甘油小于20.3 mmol/L、血红蛋白小于5 g/L时对测定无影响。

## 3 讨 论

**3.1 电化生研的LEIA试剂特点**是用两种粒子和两种抗体扩大测定范围:(A)大粒子Latex结合高反应性抗体,即使样品的水平很低也能够敏锐地反映(B)小粒子Latex结合低反应性抗体,即使样品的水平很高也能持续反映(A)和(B)以特定的比例混合,得到高灵敏度、大范围的测定性能。而且据供应商提供的资料,本试剂只有在极高水平(>700 ng/mL)才会出现前带反应,对常规工作中样品的测定没有影响。

**3.2 原发性肝细胞癌(PHC)发病率高**,大多数患者感觉异常就诊时已是中、晚期,预后极差。血清AFP水平是目前临床公认的高度敏感的血清肝癌特异性标志物,用来对高危人群预检、疗效观察、预后判断。血清中AFP水平的测定是诊断PHC和判断预后的重要指标<sup>[7]</sup>。

**3.3 目前,检测AFP水平的主要方法是CLIA法**。CLIA法继承了同位素灵敏度高的优点,但没有放射性污染及半衰期短的缺点。自动化分析有特异性好、灵敏度高、线性范围宽等优点<sup>[8-9]</sup>。但是,CLIA法需要特殊的设备,对广大2级以下医院

\* 基金项目:江苏省常州市疾病预防控制中心医学科研基金(HZ200903)。

来说,设备投入过于昂贵。

**3.4 LEIA 法检测 AFP 水平**只需在生化分析仪上进行,目前生化分析仪已经得到广泛普及,并且灵敏度可高达 0.65 ng/mL,批内和批间 CV 均小于 1%,提示精密度高;回收率 96.3%~102.9%。LEIA 试剂具有良好的抗干扰能力,溶血、黄疸、脂血对测定结果影响小,值得推广应用。

**参考文献**

[1] Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2003, 362(9399):1907-1917.  
 [2] 翟洁卿. 血清、腹水 AFP、CEA、CA125 含量与良恶性腹水的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(6):46-47.  
 [3] 王一选. ELISA 法定量测定血清 AFP 的价值[J]. 中国矿业医学, 1998, 14(3):215-216.

[4] 王丽达, 陈占良. ELISA 双位点一步法测定血清 AFP 中钩状效应与对策[J]. 河北职工医学院学报, 2003, 15(2):15.  
 [5] 马惠芬, 杨辛. 电化学发光法检测甲胎蛋白对原发性肝癌的临床诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2005, 2(5):233.  
 [6] 翟艳, 王卉. 化学发光免疫分析及其进展[J]. 长春中医药大学学报, 2009, 25(4):619-621.  
 [7] 常彬霞, 辛绍杰. 甲胎蛋白及其临床应用研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(6):576-580.  
 [8] 游娟, 丁世家. 电化学发光免疫分析及在临床检验中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(8):727-730.  
 [9] 王莉, 覃运荣, 吕世华. 溶血对化学发光法检测 AFP 和 CEA 结果影响的探讨[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(3A):660.

(收稿日期:2011-02-07)

• 检验技术与方法 •

## 肺炎支原体 IgM 抗体检测的常用方法比较

崔奕文, 刘毅, 林梅

(辽宁省大连市中心医院检验科 116033)

**摘要:**目的 比较肺炎支原体 IgM 检测的 5 种方法的敏感度、特异度和准确度,供不同条件的实验室根据实际组合应用。  
**方法** 采用酶联免疫吸附实验、金标斑点法、冷凝集实验、间接血凝实验和明胶颗粒凝集法进行检测。**结果** 冷凝集实验与其他 4 种方法比较,差异有统计学意义。**结论** 酶联免疫吸附实验敏感度最好,金标斑点法特异度最好,间接血凝实验和明胶颗粒凝集法较实用,冷凝集实验诊断意义不大。

**关键词:**支原体,人型; 酶联免疫吸附测定; 金标斑点法; 间接血凝试验; 冷凝集试验; 乳胶颗粒凝集法

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.043

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2011)10-1107-02

肺炎支原体(MP)是介于病毒和细菌之间的 1 种微生物,是一类能在无生命培养基上生长繁殖的最小的原核细胞型微生物。MP 感染可在任何年龄发生,尤其以 5~20 岁更多见<sup>[1]</sup>。MP 通过飞沫,以气溶胶微粒的形式传播,感染后引起肺炎支原体肺炎(MPP),每隔 3~5 年出现 1 次地区性流行,占各类肺炎总数的 10%~20%,入伍新兵患肺炎者 30%~50% 由 MP 引起<sup>[2]</sup>,约占非细菌性肺炎的 1/3 以上<sup>[3]</sup>。另外,还可以造成肺外各系统改变,且有死亡病例的报道,已引起临床关注。实验室检测 MP-IgM 是确诊 MPP 的有效手段,本文比较了几种常用检测方法的敏感性、特异性等指标,不同条件的实验室可根据实际组合应用,现将相关情况报道如下。

**1 材料与方 法**

**1.1 主要仪器** Tecan 洗板机和 Tecan Spectra 型酶标仪。

**1.2 材料** 中澳合作北京美迪科技生物技术有限公司酶免法测定 IgM 抗体试剂盒;美国 ALTRU BIOMEDCAL INC. 快速检测 MP-IgM 金标免疫斑点检测卡;首都儿科研究所间接血凝试剂;富士瑞必欧株式会社(FUJIREBIO INC.)赛乐迪亚-麦可 II (SERODIA MYCO II)明胶颗粒;本院临床确诊 MPP 患者血清 100 份,健康人血清 100 份。

**1.3 方法** 酶联免疫吸附实验(ELISA);金标斑点法(DIM);冷凝集实验(CAT);间接血凝实验(IHA);明胶颗粒凝集法(PLA)。

**2 结 果**

将临床确诊 MPP 及健康人各 100 份血清分别用 5 种方法进行检测,比较不同评价指标及与临床诊疗的符合情况。分别统计各方法的真阳性(TP)、假阳性(FP)、真阴性(TN)、假阴性(FN),结果见表 1。并计算敏感度、特异度、准确度、阳性

预测值(+PV)、阴性预测值(-PV)、阳性似然比(+LR)和阴性似然比(-LR),见表 2。

表 1 5 种方法的测定结果(n)

指标	DIM	ELISA	IHA	PLA	CAT
TP	88	95	90	92	43
FP	2	3	8	6	39
TN	98	97	92	94	61
FN	12	5	10	8	57

表 2 5 种方法的 6 项评价指标

指标	DIM	ELISA	IHA	PLA	CAT
敏感度(%)	88	95	90	92	43
特异度(%)	98	97	92	94	61
准确度(%)	93	96	91	93	52
+PV(%)	97.8	96.9	91.8	93.9	52.4
-PV(%)	89.1	95.1	90.2	92.2	51.7
+LR	44.0	31.7	11.3	15.3	1.1
-LR	0.12	0.05	0.11	0.09	0.93

CAT 法检测的敏感度、特异度和准确度与其他方法比较,差异有统计学意义(P<0.05);其他 4 种方法比较,差异无统计学意义(P>0.05)。

**3 结 论**

DIM 的阳性似然比最高,是确诊 MPP 的最好方法;