

其光稳定性好,耐光漂白,荧光寿命长,强度高。此外,QDs 激发光谱宽而连续,吸光系数大,荧光强度高,荧光发射峰窄而对称,且 QDs 可通过改变元素组成和粒径而呈现不同的光谱特征,这样就允许同时使用不同光谱特征的 QDs,而发射光谱不出现交叠,实现一元激发多元发射的同时标记,使生物分子的多组分同时检测成为可能。该特性具有很强的临床应用价值,既能缩短标本的检测时间,又能节省标本用量。研究已经证明,QDs 可以成功应用于石蜡包埋组织切片中抗原的检测。相信在研究者的努力下,一定可以实现石蜡包埋组织切片中多种抗原的同时检测,使 QDs 在免疫组化技术中大放异彩。

参考文献

[1] Medintz IL, Clapp AR, Brunel FM, et al. Proteolytic activity monitored by fluorescence resonance energy transfer through quantum-dot-peptide conjugates[J]. Nat Mater, 2006, 5(7): 581-589.  
 [2] Xiao Y, Barker PE. Semiconductor nanocrystal probes for human metaphase chromosomes[J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32(3): e28.  
 [3] Lidke DS, Nagy P, Heintzmann R, et al. Quantum dot ligands provide new insights into erbB/HER receptor-mediated signal trans-

duction[J]. Nat Biotechnol, 2004, 22(2): 198-203.  
 [4] Gao X, Cui Y, Levenson RM, et al. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots[J]. Nat Biotechnol, 2004, 22(8): 969-976.  
 [5] Lee LY, Ong SL, Hu JY, et al. Use of semiconductor quantum dots for photostable immunofluorescence labeling of cryptosporidium parvum[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(10): 5732-5736.  
 [6] Sakaguchi H, Fujimoto J, Bao LH, et al. Quantitative analysis of estrogen receptor proteins in rat ovary[J]. J Steroid Biochem Mole Biol, 2005, 94(1-3): 83-91.  
 [7] 陈洪雷,朱小波,张玉霞,等.量子点免疫标记技术在肺癌组织芯片上的应用[J].武汉大学学报:医学版,2008,29(5):607-609.  
 [8] Chen C, Peng J, Xia HS, et al. Quantum-dot-based immunofluorescent imaging of HER2 and ER provides new insights into breast cancer heterogeneity[J]. Nanotechnology, 2010, 21(9): 95-101.

(收稿日期:2011-01-15)

• 检验技术与方法 •

# 化学发光微粒子免疫法监测他克莫司血药浓度的临床应用评价

刘旭华,戚润鹏

(河南省郑州市人民医院检验科 450003)

**摘要:**目的 对以化学发光微粒子免疫法(CMIA)进行他克莫司治疗药物监测进行评价。方法 根据美国临床与实验室标准化协会文件 EP10-A 提供的方法,以 Architect i2000 型分析仪连续 5 d 检测他克莫司定值质控品,计算偏差、总不精密度(CV)、截距、斜率、非线性、携带污染率和漂移度;以 CMIA 和微粒子酶免疫法(MEIA)平行检测 58 例临床患者全血标本,比较检测结果的相关性。结果 各水平质控品测定值与靶值的偏差和 CV 在可接受范围内;漂移度和携带污染率对检测结果的影响差异无统计学意义( $P > 0.05$ );CMIA 与 MEIA 检测结果间有良好的相关性( $r = 0.982$ ;  $P < 0.05$ ),但比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 CMIA 具有良好的准确度和精密度,性能指标基本符合临床应用要求,可以替代 MEIA 用于他克莫司血药浓度的监测。

**关键词:** 药物监测; 他克莫司; 化学发光微粒子免疫

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)11-1216-03

治疗药物监测(therapeutic drug monitoring, TDM)在指导临床医师制定和调整合理用药方案、保证药物治疗有效性和安全性方面发挥重要作用<sup>[1]</sup>。他克莫司是一种大环内酯类抗菌剂,具有抗排异作用,广泛应用于接受器官移植的患者。因他克莫司治疗窗窄,药代动力学个体差异大,需常规监测其血药浓度<sup>[2]</sup>。化学发光微粒子免疫法(chemiluminescent microparticle immunoassay, CMIA)是用于他克莫司血药浓度监测的最新方法,笔者对该方法的临床应用进行了初步评价,并分析了 CMIA 与微粒子免疫分析法(microparticle enzyme immunoassay, MEIA)的相关性,将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetracetic acid, EDTA)抗凝静脉血标本 2 mL,采集自 58 例在本院接受肝移植或肾移植,并接受他克莫司治疗的患者,均于给药后 12 h 清晨空腹抽取。

**1.2 仪器及试剂** (1)CMIA 和 MEIA 分别采用美国 AB-BOTT 公司 Architect i2000 型全自动化学发光免疫分析仪(配

套他克莫司试剂盒、标准品)和 IMX 型分析仪(配套他克莫司 II 试剂盒、标准品)。(2)他克莫司低值(4.90 ng/mL)、中值(12.10 ng/mL)、高值(20.70 ng/mL)定值质控品购自美国 BIO-RAD 公司。

## 1.3 方法

**1.3.1** 加 200  $\mu$ L 样品(标准品、质控品或全血标本)于 1.5 mL 离心管,加 200  $\mu$ L 前处理液,充分涡旋混匀,16 440 g 离心 5 min,吸取上清液至测定管后上机检测<sup>[3]</sup>。

**1.3.2** 每天按中、中、高、低、中、中、低、低、高、高、中的顺序以上述方法测定定值质控品各 1 次,前 2 个中值检测结果不纳入统计,后 9 个检测结果中任何 1 个不合格时弃掉该批全部数据,重新测定,连续 5 d 记录有效数据并确保质控品检测在控<sup>[4]</sup>。

**1.3.3** Architect i2000 型分析仪他克莫司质控品检测评价。(1)测定值与靶值偏倚分析:以靶值为横坐标、测定值与靶值的差值为纵坐标绘制散点图,按差值不超过( $\pm 15\% \times$ 靶值)的标准判断有无离群点;计算每天各水平质控品测定值均值以及

各水平质控品测定值总均值与靶值的差值,按差值不超过( $\pm 15\% \times$ 靶值)的标准判断差值是否在可接受范围<sup>[5]</sup>。(2)总不精密度的接受范围:按照文献[4]提供的方法计算总不精密度(coefficient of variation, CV),并以试剂盒说明书提供的 CV 允许范围( $CV < 8\%$ )为标准,判断总不精密度是否在可接受范围。(3)质控品测定结果多元回归分析:按照文件 EP10-A 的要求对质控品测定值进行多元回归分析,计算截距、斜率、非线性度、携带污染率和漂移度。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 13.0 软件对数据作配对 *t* 检验、Pearson 相关分析或多元回归分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 Architect i2000 型分析仪他克莫司质控品测定值与靶值偏差分析** 以靶值为横坐标、测定值与靶值的差值为纵坐标绘制散点图,未发现离群点,见图 1。连续 5 d 各水平质控品测定值总均值与靶值的差值分析见表 1。

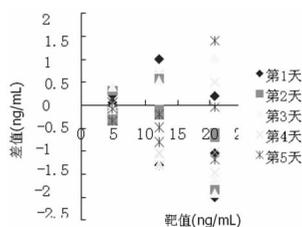


图 1 Architect i2000 型分析仪他克莫司质控品测定值与靶值的差值分布图

表 1 Architect i2000 分析仪他克莫司质控品测定结果分析 (ng/mL)

项目	低值质控品	中值质控品	高值质控品
第 1 天测定值均值	4.99	11.95	19.75
第 2 天测定值均值	4.63	12.19	19.65
第 3 天测定值均值	4.79	11.47	19.88
第 4 天测定值均值	4.70	11.51	20.04
第 5 天测定值均值	4.68	11.61	20.76
总均值(Y)	4.76	11.75	20.02
靶值(C)	4.90	12.10	20.70
差值(D)*	-0.14	-0.35	0.68
允许偏差#	$\pm 0.735$	$\pm 1.815$	$\pm 3.10$

\*:  $D = Y - C$ ; #: 允许偏差范围为 ( $\pm 15\% \times$ 靶值)。

**2.2 CV 分析结果** 以 Architect i2000 分析仪连续 5 d 检测各水平质控品, CV 分析结果见表 2; 按试剂盒说明书中 CV 要求范围 ( $CV < 8\%$ ) 判断, 检测水平质控品 CV 均在可接受范围内。

**2.3 多元回归分析结果** 以 Architect i2000 分析仪连续 5 d 检测各水平质控品, 计算截距、斜率、非线性度、携带污染率和漂移度的 5 d 平均值分别为 12.17、7.63、0.65、-0.12% 和 0.15, 其中截距、斜率的  $P$  值小于 0.05, 非线性度、携带污染率、漂移度和用刻度因子(中值-低值)校正后斜率的  $P$  值大于 0.05。

**2.4 CMIA 与 MEIA 检测 58 例临床标本结果分析** CMIA 与 MEIA 检测 58 例临床标本结果以均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 分别为 ( $8.74 \pm 3.827$ ) 和 ( $8.03 \pm 4.052$ ) ng/mL; 经配对 *t*

检验分析, 检测结果均值间的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 经 Pearson 相关分析, 检测结果相关系数为 0.982 ( $P < 0.05$ )。

表 2 以 Architect i2000 分析仪连续 5 d 检测各水平质控品 CV 分析结果

项目	低值质控品	中值质控品	高值质控品
总批内方差(R)	0.05	0.76	1.41
每天均值方差(S)	0.02	0.10	0.19
校正的日间方差(T)*	0.01	0.00	0.00
总不精密度方差(U)#	0.05	0.76	1.41
总不精密度标准差(V) $\Delta$	0.22	0.87	1.19
总均值(ng/mL)	4.78	10.93	18.88
CV $\nabla$	4.69	7.98	6.28

\*:  $T = S - R/3$ ; T 小于 0.00 时, 以 0.00 计。#:  $U = R + T$ 。 $\Delta$ :  $V = U \cdot 1/2$ 。 $\nabla$ :  $CV = V / \text{总均值} \times 100\%$ 。

**3 讨 论**

美国临床与实验室标准化协会文件《定量临床检验方法的初步评价: 批准指南(EP10-A)》是用于评价临床化学产品的标准, 按照文件要求一般可在 5~6 d 内完成对仪器的初步评价; 以偏差、截距、斜率判断准确度, 以线性度、非线性度判断线性, 以 CV 和漂移度判断精密度, 以携带污染率判断互染率; 具有操作简单、耗时短、效率高、可操作性强的优点; 对实验过程中的每个步骤都有严格要求, 使评价方法标准化, 评价结果之间具有可比性。

Architect i2000 型全自动化学发光分析仪配套他克莫司检测试剂盒采用类磁颗粒作为包被载体, 增加了反应的表面积, 提高了检测灵敏度, 缩短了检测时间; 反应过程中采用磁力吸附法分离磁颗粒, 冲洗彻底, 因而具有更高的特异性。本研究显示, 以 Architect i2000 型分析仪进行他克莫司检测, 其偏差和 CV 均在可接受范围内; 截距的  $P$  值小于 0.05, 说明定值质控品测定值与参考值间有恒定误差; 斜率与 0 比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 校正后斜率与 1 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 说明具有良好的线性。

他克莫司测定方法较多, 如放射受体分析法、酶联免疫吸附法(ELISA)、MEIA、高效液相色谱法、化学发光法、高效液相色谱/质谱法等; 不同的方法对标本提取的过程不同, 对代谢物的识别亦不同, 因此所测结果也不相同<sup>[6]</sup>。早期普遍采用 ELISA 和 MEIA 进行他克莫司的 TDM, 也常用于确定临床治疗窗范围<sup>[7-8]</sup>, 但 ELISA 操作复杂、影响因素较多<sup>[9]</sup>, 而 MEIA 测定他克莫司已被 CMIA 所替代。因此, 评价 CMIA 检测他克莫司的性能, 以及分析 CMIA 与 MEIA 所测结果的相关性是有利于为临床医师提供具有一定临床价值的参考信息。本研究显示, CMIA 与 MEIA 他克莫司检测结果具有良好的相关性, 但 MEIA 所测结果高于 CMIA, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 提示不应应对两种方法的检测结果进行相互比较<sup>[10]</sup>。

综上所述, 以 Architect i2000 型分析仪进行他克莫司的 TDM, 具有良好的准确度和精密度, 偏差在允许范围内, 携带污染、漂移等因素对检测结果无明显影响, 性能指标可靠, 适合临床实验室使用。由于 CMIA 检测他克莫司浓度低于 MEIA, 且显著相关, 因此在选择 Architect i2000 型分析仪进行他克莫司 TDM 时, 需建立新的药物治疗窗范围。

**参考文献**

[1] Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus document;

therapeutic monitoring of tacrolimus (FK506) [J]. Ther Drug Morit, 1995, 17(6): 606-614.

[2] Undre NA, Stevenson P, Schäfer A. Pharmacokinetics of tacrolimus: clinically relevant aspects [J]. Transplant Proc, 1999, 31(7A): S21-24.

[3] 赵友林. 提高药物临床试验安全性检验的质量探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 889-890.

[4] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP10-A Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods [S]. Wayne PA, NCCLS, 1998.

[5] Vinod PS, Kamal KM, Shrikant D, et al. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies [J]. Pharm Res, 1992, 9(4): 588-591.

[6] 周永恒, 石磊, 唐镜波. 影响他克莫司血药浓度的因素[J]. 中国药房, 2005, 16(24): 1909-1911.

[7] 王立明, 闵志廉, 朱有华, 等. 肾移植受者应用他克莫司治疗窗浓度的探讨[J]. 中华器官移植杂志, 2000, 21(3): 145-146.

[8] 马嵘, 胡翠华, 谢洁红, 等. 多元分析模板图在监测肝移植受者 FK506 治疗窗浓度的应用[J]. 微循环杂志, 2010, 20(3): 41-43.

[9] 叶伟民, 陆慧琦, 朱焯, 等. 他克莫司在临床检测中的方法学比较[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(2): 85-87.

[10] 李启欣, 李炜焯, 陈斌鸿, 等. 不同化学发光检测系统 FT3、FT4、TSH 结果的可比性和倚倚评估[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(8): 790-791.

(收稿日期: 2011-03-01)

• 检验技术与方法 •

## 时间分辨荧光免疫分析和酶联免疫吸附实验检测乙型肝炎病毒血清标志物结果分析

李艳霞

(河南省安阳市人民医院检验科 455000)

**摘要:**目的 探讨时间分辨荧光免疫分析 (TRFIA) 检测乙肝病毒血清标志物 (HBV-M) 的临床价值。方法 采用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 和 TRFIA 对 272 例血清标本的 HBV-M 进行平行检测, 对两种方法检测结果进行比较分析。结果 ELISA 和 TRFIA 检测血清 HBV-M 各指标阳性率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb 检测结果阳性符合率分别为 96.9%、86.5%、94.6%、98.2% 和 96.8%。结论 两种方法检测 HBV-M 阳性符合率除 HBsAb 外均高于 90%, 表明两种方法均适合应用于乙肝病毒的临床检测; ELISA 易出现假阳性和假阴性结果; TRFIA 检测 HBV-M 不仅特异性强、敏感性高, 而且能够定量, 值得临床推广应用。

**关键词:** 酶联免疫吸附测定; 时间分辨荧光免疫法; 乙肝病毒标志物

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.035

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2011)11-1218-02

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染在中国属高流行性疾病<sup>[1]</sup>。以酶联免疫吸附实验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测 HBV 血清标志物 (HBV serological marker, HBV-M), 即“两对半”检测, 其具有简单、方便、快速的优点, 在临床广泛应用。时间分辨荧光分析法 (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA) 是用于检测 HBV-M 的新方法<sup>[2]</sup>。笔者采用 TRFIA 和 ELISA 平行检测了 272 例血清标本的 HBV-M, 并对检测结果进行了分析, 现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 272 例血清标本采集自 2009 年 1 月至 2010 年 9 月于本院检测 HBV-M 定量检测乙肝患者及其家属, 其中男 171 例, 女 101 例。

**1.2 仪器与试剂** HBV-M ELISA 检测试剂盒 (上海科华生物技术有限公司)、RMP-150 全自动酶免仪 (瑞士帝肯公司); TRFIA 检测采用 EFFICUTA 全自动标本前处理系统、ANY-TEST 时间分辨荧光检测仪及配套试剂 (上海新波生物技术有限公司)。

**1.3 方法** 以无抗凝剂或含促凝分离胶真空管抽取受试者早晨空腹静脉血 3~5 mL, 37℃ 放置, 待凝血后离心分离血清, 1~2 h 内检测。ELISA 与 TRFIA 均严格按试剂盒和仪器说明书操作。ELISA 为定性检测, 按酶标仪结果判读阴、阳性, HBV-M 任一指标为弱阳性的标本及“表面抗原、表面抗体”、“e 抗原、e 抗体”双阳性标本均设置 2 个平行孔复查, 仍为阳性者判为阳性。TRFIA 为定量检测, 结果正常参考范围为 HBsAg 0.0~0.2 ng/mL、HBsAb 0~10 mIU/mL、HBeAg 0.0~

0.5 PEIU/mL、HBeAb 0.0~0.2 PEIU/mL、HBcAb 0.0~0.9 PEIU/mL, 超过正常参考范围上限判为阳性, 反之为阴性。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 12.0 统计分析软件对检测结果进行分析,  $P < 0.05$  时差异有统计学意义。

### 2 结果

272 例血清标本 ELISA 定性检测, HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb 阳性例数分别为 220、32、89、112 和 218 例; TRFIA 定量检测, 上述各指标阳性例数依次为 227、37、94、110 和 211 例。经统计学处理, ELISA 定性检测, HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb 阳性率分别为 80.9%、11.8%、32.7%、41.2% 和 80.1%, TRFIA 定量检测上述各指标的阳性率分别为 83.5%、13.6%、34.6%、40.4% 和 81.2%, 两种检测方法上述各指标阳性率差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 各指标的阳性符合率依次为 96.9%、86.5%、94.6%、98.2% 和 96.8%。

### 3 讨论

本研究显示, ELISA 和 TRFIA 检测血清标本 HBV-M 各指标阳性率差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 两种方法检测结果阳性符合率除 HBsAb 外均高于 90%, 和相关报道基本一致<sup>[3]</sup>, 表明两种方法均适合应用于 HBV-M 的临床检测。但两种方法之间仍存在一定的“灰区”检测范围, ELISA 检测结果中出现了部分假阳性和假阴性, 提示 TRFIA 检测乙肝病毒血清标志物 (HBV-M) 的灵敏度高于 ELISA 法。

ELISA 是用于检测血清 HBV-M 的传统标记免疫检测方法, 具有快速、简便、价廉等优点, 在 HBV 感染所致疾病的病