

[3] 周健,喻明,马晓静,等. 2 型糖尿病全天血糖水平与糖化血红蛋白血糖漂移幅度的相关性分析[J]. 中国实用内科杂志, 2006, 26(10):763-766.

[4] 薛声能,程桦. 糖化血红蛋白的研究进展[J]. 国外医学:内科学分册, 2008, 35(10):586-588.

[5] 瞿良,王惠萱,朱玉琨,等. 糖化血红蛋白检测的循证检验医学观点[J]. 国际检验医学杂志, 2005, 26(10):718-721.

[6] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:

东南大学出版社, 2006;348.

[7] 肖飞远,李红,荣秋心. 关于糖化血红蛋白检测基础与临床意义的研究进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2005, 12(2):114-116.

[8] 朱华,周劲峰,汪子伟. 液相色谱法测定 HbA1c 标本的前处理[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(3):202.

(收稿日期:2012-02-09)

• 检验技术与方法 •

免疫透射比浊法与免疫散射比浊法检测特定蛋白的比较

张 倩,周敬静,徐 华
(昆明市儿童医院检验科,云南昆明 650034)

摘要:目的 对免疫透射比浊法与免疫散射比浊法两种方法检测特定蛋白进行比较。方法 应用 Olymou-s-AU2700 全自动生化分析仪与 DadeBehring BNProspec 特定蛋白仪对 IgG、IgM、IgA、C₃ 和 C₄ 5 种血清蛋白进行初步的方法学比较。结果 免疫透射比浊法与免疫散射比浊法的批内精密度均较好, CV<3.3%。免疫透射比浊法与免疫散射比浊法在医学决定水平浓度从低检测范围到高检测范围, 均有良好的线性回归, 相关系数分别为: 0.96、0.96、0.90、0.98、0.84。结论 免疫透射比浊法具有较好的精密度及较宽的检测范围, 与免疫散射比浊法相关性良好, 且透射比浊法成本低, 收费低, 便于基层及常规实验室开展。

关键词:免疫透射比浊法; 免疫散射比浊法; 免疫球蛋白; 补体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.042 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)20-2530-02

目前,免疫透射比浊法与免疫散射比浊法是检测血清中特定蛋白常用的两种方法,散射比浊法长久以来被认为是测定血清蛋白的最佳方法,既灵敏准确度又高。虽然散射比浊仪器已经开始普及,但许多基层医疗机构仍然没有此检测条件。为了能很好地开展血清特定蛋白的检测,研究者应用 DadeBehring BNProspec 特定蛋白仪与 Olymou-s-AU2700 全自动生化分析仪对 IgG、IgM、IgA、补体 C₃ 和补体 C₄ 5 种血清蛋白进行初步的方法学比较,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 来源于昆明市儿童医院门诊及住院患者无溶血、脂血及黄疸新鲜血清标本 52 例(含高、中、低值)。

1.2 仪器与试剂 DadeBehring BNProspec 特定蛋白仪, Olymou-s-AU2700 全自动生化分析仪。DadeBehring 特定蛋白仪试剂、校准品和质控为原装配套试剂。Olymou-s-AU2700 全自动生化分析仪试剂为上海科美东雅公司试剂及校准品。

1.3 方法 定标后,采用各自的高、中、低 3 个水平蛋白质控品在 Olymou-s-AU2700 分析仪和 Dade Behring BNProspec 特定蛋白分析仪上作室内质控,确保质控结果在允许范围内才能进行下一步的测定。

1.4 统计学处理 使用 SPSS13.0 统计软件包进行数据处理。计算两种方法测定结果均值及两种方法间的差值,以透射比浊法为实验方法(Y),散射比浊法为比较方法(X),按照 Ep9-A2 文件对两种方法的测定结果进行方法对比并做回归分析。

2 结 果

2.1 两种方法测定结果 两种方法测定特定蛋白结果及相对偏差,见表 1。

2.2 两种方法测定结果离散程度 两种方法测定结果离散程度较小,符合 NCCLS(EP9-A)要求,见图 1。

2.3 两种方法相关性及回归分析 以散射比浊法作为参照方法,透射比浊法为实验方法。对两方法的测定结果进行相关

性及回归分析,见表 2。

表 1 透射比浊法(Y)与散射比浊法(X)测定免疫球蛋白参数对照(n=52,g/L)

项目	Y($\bar{x}\pm s$)	X($\bar{x}\pm s$)	X-Y
IgG	6.75±5.6	7.48±4.3	0.7
IgA	1.29±0.6	1.14±0.6	-0.15
IgM	0.81±0.3	0.62±0.3	-0.2
C ₃	0.86±0.2	0.95±0.3	0.08
C ₄	0.32±0.1	0.24±0.1	-0.09

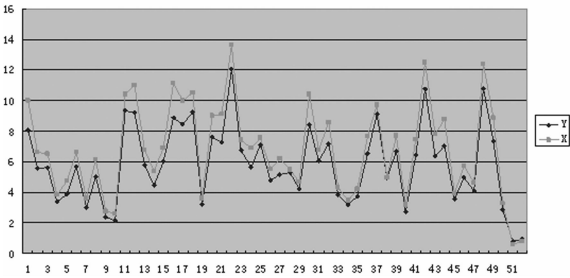


图 1 两种方法测定结果离散程度

表 2 两种方法相关性及回归分析(n=52)

项目	线性方程	相关系数
IgG	$Y=1.07X-0.12\text{g/L}$	0.96
IgA	$Y=0.89X+0.06\text{g/L}$	0.96
IgM	$Y=1.08X-0.06\text{g/L}$	0.90
C ₃	$Y=0.87X-0.07\text{g/L}$	0.98
C ₄	$Y=1.02X-0.05\text{g/L}$	0.84

3 讨 论

通过该组数据可显示免疫透射比浊法在医学决定水平浓度范围检测特定蛋白与免疫散射比浊法比较具有较好的精密度及较宽的检测范围,与免疫散射比浊法相关性良好。

由于透射比浊法和散射比浊法的检测原理不同。透射比

浊法是测定通过不溶性复合物到达探测器而未被散射或吸收的光线量,光通量与抗原含量成反比。散射比浊法是一定波长的光沿水平轴照射,通过液体时遇到抗原抗体复合物粒子,光线被粒子颗粒折射,发生偏转,光线偏转的角度与发射光的波长和抗原抗体复合物大小和多少密切相关,通过测定散射光的强度来反映被测成分的含量。

长期以来,人们普遍认为免疫透射比浊法的灵敏度不够理想,检测范围不够宽,原因是免疫复合物颗粒太小阻挡不了光线的通过;或是免疫复合物的数量太少,其浊度变化对光通量的透过影响不大,特别是在低浓度时更加明显^[1-2]。而在抗原过量情况下,透射比浊法易出现钩状效应而导致结果偏低。而在速率散射比浊法检测时,仪器设计有抗原过量检测系统,抗原过量时会提示样本稀释,从而达到检测结果的准确性和精密性。由此,在比较实验中,速率散射比浊法在低浓度和高浓度测定中可以得到较为准确的结果^[3-5]。但是,在基层医疗单位,常常没有条件满足使用散射比浊法测定特定蛋白,应用免疫透射比浊法检测就显得更加重要。其次,随着检验医学的日趋发展,检验质量管理已规范化,实验室应重视不同检测方法之间检测结果是否存在一致性的问题^[6-8]。

根据 NCCLS(EP9-A)要求^[6],同一标本在不同系统(仪器、试剂、方法学等)的检测结果显示存在一定的偏差,但通过校正及比对试验后可以取得两者之间结果的一致性,从而满足临床的需要。虽然,透射比浊法和散射比浊法的检测原理不同,但两法均属于免疫比浊测定。本文对这两种方法测定免疫球蛋白的结果进行比对分析,两种方法的测定结果具有较好的相关性。

• 检验技术与方法 •

幽门螺杆菌 IgG 抗体免疫层析分型方法的建立

胡纪文¹,熊建辉¹,张永顶²

(1. 深圳市罗湖区中医院检验科,广东深圳 518000;2. 深圳市南山区西丽医院,广东深圳 518000)

摘要:目的 建立 1 种检测血清中抗幽门螺杆菌(Hp)抗体的胶体金免疫层析(GICA)方法。方法 采用柠檬酸三钠还原法制备胶体金颗粒,标记 SPA,将 Hp 重组抗原 VacA、CagA 和 UreaA、UreaB 抗原包被于硝酸纤维素膜 NC 上,制成免疫层析检测试纸条。血清中的抗 Hp 抗体与测试条上金标记物结合后沿着硝酸纤维素膜移动,与膜上的固相抗原结合形成肉眼可见的酒红色线条。**结果** 用 GICA 与免疫印迹试剂盒对比检测了 180 份血清标本中抗 Hp 抗体,显示本方法检测敏感度、特异度分别为 95.4%和 96.3%,两法总符合率为 96.1%。**结论** 用这种免疫层析 GICA 分型方法检测血清中抗 Hp 抗体,灵敏度高、特异性强、简便快速,有着广泛临床应用前景。

关键词:螺杆菌,幽门; 免疫层析; 免疫球蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)20-2531-03

幽门螺杆菌(Hp)感染在慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌等消化道疾病致病中起重要作用^[1-3]。流行病学调查证明,我国成人 Hp 感染率在 50%以上,相关的临床研究表明 Hp 的致病性主要与菌型特性、感染年龄及机体反应性有关。因为不同的 Hp 菌株生物学特性和致病性有明显差异,目前通常采用免疫分型,细胞毒性试验和 PCR 等方法^[4-5]。本研究采用 Hp 主要重组抗原片段、SPA 抗原建立胶体金免疫层析(GICA)方法,检测血清中抗 Hp IgG,并对其进行免疫学分型,包括Ⅰ型(毒力型)和Ⅱ型(非毒力型)。优化胶体金免疫层析快速诊断试纸条研制各关键步骤的实验条件和步骤,为进一步产业化定实验基础。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 180 份临床血清考核标本由深圳市罗湖区中医院、深圳市南山人民医院、深圳市南山区西丽医院和深圳市

性,散射比浊法特定蛋白分析仪对免疫球蛋白检测,能保证检验结果的准确性和可靠性。但在许多没有此条件基层医疗机构,选择透射比浊法检测免疫球蛋白也能在不同检测系统的检测结果间达到可比性和一致性。

参考文献

- [1] 陈世佳.透射比浊法和散射比浊法检测 RF 的结果比较[J].淮海医药,2009,27(6):484-485.
- [2] 段玉东,桑俊军,闫海鹏,等.散射比浊法和透射比浊法测定血浆免疫蛋白的比较[J].中国医药导报,2008,5(2):97.
- [3] 张汉园.透射比浊法和速率散射比浊法测定 C 反应蛋白的比较[J].江苏大学学报,2004,14(4):348-350.
- [4] 但刚,胡宗海,李同心.免疫透射和免疫散射比浊法测定血清免疫球蛋白及补体的比较[J].西南国防医药,2008,18(5):659-661.
- [5] 蒋斌华,苏运钦.透射比浊法与散射比浊法检测 ApoA1、ApoB 的方法比较[J].广州医药,1999,30(6):70-72.
- [6] 赵莹,张杰,徐根云.应用 NCCLS Ep9-A 对两种蛋白分析仪的免疫球蛋白测定结果进行比对[J].江西医学检验,2006,24(4):315-317.
- [7] 陈华,王永卿.免疫透射比浊法测定类风湿因子的应用评价[J].国际检验医学杂志,2008,29(1):21-22.
- [8] 张强,罗浔阳,胡金曹.两种免疫比浊法测定血清免疫球蛋白的结果差异探讨及解决方法[J].实验与检验医学,2008,26(2):198-199.

(收稿日期:2012-04-12)

龙华人民医院提供。

1.2 仪器与试剂 氯金酸($\text{HAuCl} \cdot \text{Cl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$),上海化学试剂厂;SPA,卫生部上海生物制品研究所;Hp 的重组蛋白片段 VacA、CagA,深圳菲鹏公司;Ure A、UreaB,国外某公司;硝酸纤维(NC)膜,Millipore 公司;玻璃纤维膜,S&S 公司;IBT 试剂盒,深圳伯劳特公司;Z323K 低温高速离心机,美国;点膜器,美国 Bio-Dot 公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫胶体金的制备 15 nm 胶体金的制备,参照文献[6-8]进行。其步骤为:去离子水溶解氯金酸使其终浓度为 0.2 g/L,煮沸后每 100 mL 加入 10 g/L 柠檬酸三钠水溶液 4 mL,继续煮沸 7 min,观察胶体金的粒度。取颗粒直径为 15 nm 的胶体金 100 mL,用 0.1 mol/L K_2CO_3 调至 pH 6.2,在搅拌