

志,2001,24(1):71-72.

[2] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 第四次全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中华结核和呼吸杂志,2001,25(1):3-7.

[3] 梁建琴,高华方,李洪敏,等. PCR 荧光探针法快速检测结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌[C]. 中华医学会结核病学分会学术会议论文汇编,2011:20-23.

[4] 毕爱笑,金文国,丁元生,等. TB-SA 结核抗体检测临床应用评价[J]. 同济大学学报:医学版,2007,29(2):77-78.

[5] 端木宏瑾,屠德华,张培元,等. 临床技术操作规范:结核病分册

[M]. 北京:人民军医出版社,2004:25-46.

[6] 高孟秋,初乃惠,王海英,等. 结核分枝杆菌特异度蛋白抗体检测在结核病诊断中的价值[J]. 中华结核和呼吸杂志,2007,30(12):918-920.

[7] 乐军,梁莉,李苏辉,等. 酶联免疫斑点试验快速诊断结核分枝杆菌感染的临床应用价值[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(11):1005-1008.

(收稿日期:2013-01-21)

• 检验技术与方法 •

时间分辨荧光免疫分析测定乙型肝炎病毒表面抗原 Cut-off 值的确定

颜永乾

(四川省泸州市第二人民医院,四川 泸州)

摘要:目的 利用受试者工作曲线(ROC)验证和重新确定时间分辨荧光免疫分析(TR-FIA)测定乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)的诊断阈值(Cut-off)。方法 回顾性分析该院门诊、住院及社会体检人群的 HBsAg 的定量值。以不同的 Cut-off 值进行数据分组。再根据灵敏度和特异度绘制 ROC 曲线。**结果** 该科现用的试剂说明书给定的 Cut-off 值为 0.2 ng/mL,其灵敏度和特异度分别是 0.998 7,0.330 4,尤登指数为 0.329 1;以 0.4 ng/mL 为 Cut-off 值时,其灵敏度和特异度分别是 0.986 2,0.959 9 尤登指数为 0.946 1。**结论** 应用 ROC 曲线对临床实验室、该区域人群进行分析,可以更科学地得出适合该实验室、该区域人群的临床诊断的灵敏性和特异度,进而找到最理想的临床诊断界点,即 Cut-off 值。也可以对不同仪器、试剂进行相应参数的比较和调整。

关键词:时间分辨荧光免疫分析; ROC 曲线; 肝炎表面抗原,乙型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.10.035 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)10-1276-03

TR-FIA 具有灵敏度高、特异度好、采用自动化分析系统、易于大规模批量操作等优点,已广泛应用于临床,并逐步受到人们的重视^[1-2]。但其 Cut-off 值的设定,各家不尽相同,有的点连溯源值和单位也不同(比如:MIU/mL,PEIU/mL,NCE/mL,DRU/mL),试剂厂家所使用的定值参考人群也不同。因此,各商家试剂产品说明书提供的 Cut-off 值存在一定的差别。进口试剂的差别更大。因此,Cut-off 值的确定是 TR-FIA 自动化和标准化的关键。建立本实验室的 Cut-off 值是迫切需要解决的问题。本文就对 TR-FIA 定量测定 HBsAg 的 Cut-off 值设定进行回顾性分析,并验证试剂说明书提供的 Cut-off 值以及确定本实验室的 Cut-off 值。从而为临床提供更为可靠实用的诊断效能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院门诊、住院和社会体检人群的 HBsAg 定量测定结果(以发出报告数据结果为准)按结果数据大小排列,并进行分组。经微粒子酶免分析确定,HBsAg 阳性组 720 例,男 341 例,年龄 0~81 岁;女 379 例,年龄 0~84 岁。HBsAg 阴性组 14 970 例,男 6 890 例,年龄 0~82 岁;女 8 080 例,年龄 0~79 岁。

1.2 仪器与试剂 ANYTEST 时间分辨荧光分析仪,EFFI-CUTA 全自动样本前处理系统。HBsAg 诊断试剂盒为苏州新波生物技术有限公司产品,试剂批号 20120515。试剂盒随带的 A:0 ng/mL,B:0.22 ng/mL,C:1.00 ng/mL。试剂批号:20120515。

1.3 方法 按试剂盒说明书操作,由前处理系统完成加样、孵育、加试剂、洗涤。然后由荧光分析仪进行荧光值的判读。

1.4 统计学处理 利用 SPSS13.0 软件作数据分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 数据分析与验证 因试剂盒设定的 Cut-off 值为 0.2 ng/mL(浓度值大于或等于 0.2 ng/mL 时判为阳性)。故以 0.2 ng/mL 为中心设定 0.050、0.100、0.150、0.200、0.250、0.400、0.500、1.000、2.000、5.000 的 10 个 Cut-off 值,再根据 HBsAg 阳性和阴性数据分布表(见表 1),获得不同测定值的标本例数,作 ROC 曲线分析,得出 HBsAg 阴性和阳性监测结果按不同 Cut-off 值的判断列表(见表 2)。初步验证以 0.2 ng/mL 为 Cut-off 值时,其尤登指数为 0.329 1。以 0.4 ng/mL 为 Cut-off 值会得到更接近 1 的尤登指数。

表 1 720 份 HBsAg 阳性和 14 970 份 HBsAg 阴性标本测定值分布(n)

测定值	阳性分布	阴性分布
<0.05	0	870
0.05~0.10	0	840
0.10~0.15	0	1 240
0.15~0.20	1	1 996
0.20~0.25	3	956
0.25~0.40	6	8467
0.40~0.50	8	102
0.50~1.00	33	298
1.00~2.00	18	124
2.00~5.00	32	56
>5.00	619	21
合计	720	14 970

表 2 HBsAg 阴性和阳性监测结果按不同 Cut-off 值的判断列表

诊断界点	TR-FIA	HBsAg 阳性组(<i>n</i> =720)	HBsAg 阴性组(<i>n</i> =14 970)	灵敏度	特异度	1-特异度	尤登指数
0.050	阳性	720	14 100	1.000 0	0.058 2	0.941 8	0.058 2
	阴性	0	870				
0.100	阳性	720	13 260	1.000 0	0.114 3	0.885 7	0.114 3
	阴性	0	1 710				
0.150	阳性	720	12 020	1.000 0	0.197 1	0.802 9	0.197 1
	阴性	0	2 950				
0.200	阳性	719	10 024	0.998 7	0.330 4	0.669 6	0.329 1
	阴性	1	4 946				
0.250	阳性	716	9 068	0.994 5	0.594 7	0.405 3	0.589 2
	阴性	4	8 902				
0.400	阳性	710	601	0.986 2	0.959 9	0.040 1	0.946 1
	阴性	10	14 369				
0.500	阳性	702	499	0.975 0	0.966 7	0.033 3	0.941 7
	阴性	18	14 471				
1.000	阳性	669	201	0.929 2	0.986 6	0.013 4	0.915 8
	阴性	51	14 769				
2.000	阳性	651	77	0.904 2	0.994 9	0.005 1	0.899 1
	阴性	69	14 893				
5.000	阳性	619	21	0.859 8	0.998 6	0.001 4	0.858 4
	阴性	101	14 949				

2.2 ROC 曲线的绘制 以灵敏度为纵坐标,1-特异度为横坐标作 ROC 曲线(见图 1、表 3)。

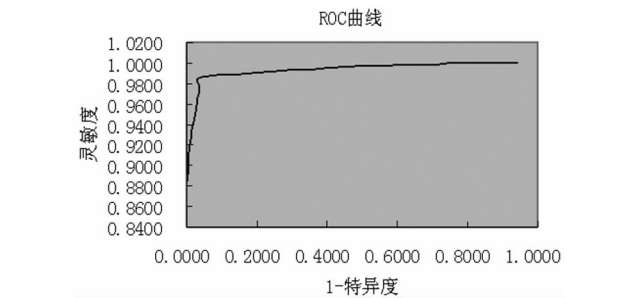


图 1 ROC 工作曲线

表 3 ROC 数据源

诊断界点	1-特异度	灵敏度
0.050 0	0.941 8	1.000 0
0.100 0	0.885 7	1.000 0
0.150 0	0.802 9	1.000 0
0.200 0	0.669 6	0.998 7
0.250 0	0.405 3	0.994 5
0.400 0	0.040 1	0.986 2
0.500 0	0.033 3	0.975 0
1.000 0	0.013 4	0.929 2
2.000 0	0.005 1	0.904 2
5.000 0	0.001 4	0.859 8

2.3 进一步验证 以试剂盒中标准品 A 稀释标准品 C 获得 0.40 ng/mL 的标准浓度值。然后以 0.22 、0.40、1.00 ng/mL 三标准品为监测样本,每天各测 20 次,连续测定 20 d,分别计算批内、批间的标准差及变异系数,见表 4。

表 4 三个浓度值的均值、标准差、变异指数的比较

组别(ng/mL)	$\bar{x}$	<i>s</i>	CV(%)
0.22			
	批内	0.1821	0.0388
	批间	0.1901	0.0441
0.40			
	批内	0.3982	0.0403
	批间	0.4091	0.0582
1.00			
	批内	1.0421	0.0523
	批间	1.0624	0.0725

3 讨 论

乙型肝炎病毒标志物监测在预防医学、临床诊断和治疗中具有非常重要的意义。因此它的准确性受到医疗界以及全社会的关注。近年来,随着医学检验技术的不断发展以及社会对乙肝病毒的广泛深刻认识。乙肝病毒标志物的检测已从定性检测发展到定量检测;从不能干预乙肝病毒到可以干预(当然,目前只能做到抑制病毒而不是杀灭病毒);从多方面限制乙肝患者(或携带者)就业到极少行业限制就业,即全社会取消乙肝就业歧视。因此,提高乙肝病毒标志物的检测灵敏度,降低漏

诊率,让“窗口期”提前,保护医务工作者和患者的密切接触者,防范因职业暴露而感染上乙肝病毒,就成为检验界为之努力的目标。反向间接血凝试验(RPHA),因其敏感度差,全手工操作,人工判读,已被卫生部淘汰;ELISA 是目前临床检测乙肝标志物普遍采用的方法,虽经多次方法更改,由于各试剂生产厂家制作工艺的差异,致使检测结果的重现性不好^[3];微粒子酶免疫分析是目前国际公认的检测乙肝标志物的金标准,其灵敏度和稳定性均能达到临床和科研要求。但仪器昂贵,试剂成本高,不适合基层医院使用。TR-FIA 是继 EIA、RIA 之后的一种新的高灵敏的检测方法^[4]。以其灵敏度高、操作简便、易自动化、标准曲线范围宽、不受样品自然荧光的干扰、标记物制备简便其稳定、无放射性污染、多标记等特点,越来越受到国内检验界的认可。但是,从实际工作中及临床信息反馈中,乙肝标志物的定量检测仍不是很满意:低含量的 HbsAg、HbsAb 的出现;不同实验室使用不同单位、不同 Cut-off 值,而出现检测结果的差异。这都源于操作规程和判断标准的不统一,室内控制不完善。

本实验仅就特定仪器,特定试剂,特定区域作 Cut-off 值的确定,以期待达到操作和判断的统一。试剂盒提供的 Cut-off 值,仅是源自他们的仪器,他们的区域人群得到的。必然导致定量检测值分布差异。从表 2 也可见,当诊断界点为 0.2 ng/mL 的尤登指数是 0.329 1,当诊断界点为 0.4 ng/mL 时的尤登指数是 0.946 1,是最接近 1 的。从表 4 可以更进一步看出,当标志物浓度为 0.22 ng/mL 时其批内、批间的变异系数

• 检验技术与方法 •

骨髓有核红细胞过碘酸-碱性复红染色对血液病诊断

李楠,许议丹,汝昆[△]

(中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所血液病医院病理诊断中心,天津 300020)

摘要:目的 探讨有核红细胞过碘酸-碱性复红染色(PAS)的变化及临床意义。方法 对正常骨髓象及各种血液病共 423 例的骨髓进行有核红细胞 PAS 染色。结果 骨髓有核红细胞 PAS 染色除 39 例大致正常骨髓象和 2 例慢性淋巴细胞白血病(CLL)为阴性外,其余病种均可见到阳性。结论 有核红细胞过碘酸-碱性复红染色(PAS)阳性更多见于急性髓细胞白血病(AML)和骨髓增生异常综合征(MDS),有助于与巨幼细胞性贫血(MegA)的鉴别。

关键词:有核红细胞过碘酸-碱性复红染色; 急性髓细胞性白血病; 骨髓增生异常综合征; 巨幼细胞性贫血
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.10.036 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)10-1278-02

有核红细胞过碘酸-碱性复红染色(PAS)变化及临床意义早有报道^[1],近年的观察中作者发现了一些新的有意义的结果。本文总结正常骨髓象及各种血液病共 423 例的骨髓有核红细胞 PAS 染色,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 423 例中正常骨髓象 39 例;其余均为本院住院和门诊初诊患者 384 例。包括慢性再生障碍性贫血(CAA)41 例、重症再生障碍性贫血(SAA)35 例、血小板减少 67 例、Evan's 综合征 8 例、缺铁性贫血(IDA)84 例、巨幼细胞性贫血(MegA)15 例、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)18 例、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)12 例、真性红细胞增多症(PV)5 例、骨髓增生异常综合征(MDS)20 例(RA 10 例、RAEB I 6 例、RAEB II 4 例)、急性粒细胞白血病(M2)28 例、急性粒-单细

都大于 20%。试剂说明书中没有提供方法检测 HbsAg 的最低检测线和最大检测范围,但按文献^[5]定义,精密度小于或等于 20%时(即 CV≤20%)的分析浓度即为最低检测线。试剂说明书提供的判断值,实为其方法的最低检测浓度。通过本实验室的验证,0.2 ng/mL 是检测的最低检测线,而不是判断阳性的界点,0.4 ng/mL 才是最佳 Cut-off 值。本结论也可以从其他文献报道中得到印证^[6]。

参考文献

[1] 田振,郭周义,贾雅丽.时间分辨荧光免疫分析及其在临床检测中的应用[J].激光生物学报,2002,11(4):290-295.
[2] 罗开中,杨旭,苏先狮,等.时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒标志物[J].中华肝病杂志,2003,11(9):569.
[3] 魏来,陶其敏.努力规范肝脏疾病的免疫学诊断[J].中华检验医学杂志,2003,26(2):69-71.
[4] Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, et al. Involvement of a Ca2+ channel gene in familial hemiplegic migraine and migraine with and without aura[J]. Headache, 1997, 37(8):479-485.
[5] 冯仁丰.分析灵敏度(检测限)[J].上海医学检验杂志,2002,17(3):133-136.
[6] 李欣,王维,李多孚.时间分辨荧光免疫分析法测定 HBsAg 的方法学评价[J].国际检验医学杂志,2010,31(4):408-409.

(收稿日期:2012-12-28)

胞白血病(M4)7 例、急性单核细胞白血病(M5)13 例、红白血病(M6)25 例、急性淋巴细胞白血病(ALL)^[2]4 例和慢性淋巴细胞白血病(CLL)2 例。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 1%过碘酸

1.2.2 雪夫试剂 碱性品红(北京化工厂)、偏重亚硫酸钠、1N NCL(现用现配)和优质活性炭。试剂配制按本室常规^[3]。

1.3 方法 骨髓标本在制片后迅速风干,用 95%乙醇固定 10 min,晾干。室温放置 3 d 内染色。染色方法按本室常规方法^[3-7]。计数 100 个涂片细胞分布均匀体尾相交处的中、晚幼红细胞。阳性及积分按《血液学实验诊断》要求来计数。

1.4 统计学处理 对血液病患者骨髓有核红 PAS 阳性者例数、阳性率及阳性指数采用 SPSS 软件进行统计学分析。

[△] 通讯作者, E-mail: jolienanan@gmail.com。