

[4] 魏昊,丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2004: 72-75.

[5] 陈捷, 王兰兰, 李立新, 等. 根据 NCCLS-EP9-A2 评价 2 种发光免疫分析法的一致性[J], 临床检验杂志, 2006, 24(3): 169-171.

[6] Porakishvili N, Fordham J L, Charrel M, et al. A low budget luminometer for sensitive chemiluminescence immunoassays[J]. Immunologic Methods, 2000, 234(1/2), 35-42.

[7] Konig B, Ivankovic B, Schleft R, et al, Liaison free PSA-an automated chemiluminescent immunoassay for the determination of free prostate specific antigen[J], Anticancer Res, 1999, 19(4A): 2763-2765.

[8] 陈曲波, 庄俊华. 不同检测系统间甲状腺激素测定结果的偏倚分析及其可比性研究[J] 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22(3), 288-289.

(收稿日期: 2013-01-08)

• 质控与标规 •

尿液特定蛋白质控物的制备

黄进明

(深圳市福田区第二人民医院检验科, 广东深圳 518049)

摘要:目的 制备尿液微量清蛋白(MA)、α1-微球蛋白(α1-MG)、转铁蛋白(TRF)和免疫球蛋白 G(IgG)质控物, 用自制质控物取代价格昂贵的进口质控品。方法 选取尿蛋白异常升高患者尿液标本, 以乙二醇为稳定剂、叠氮钠为防腐剂、Triton x-100 为表面活性剂制备低值和高值两个水平的质控物, 分装后-60 ℃保存, 并评价其稳定性和瓶间差。结果 结论 低温下保存可以稳定 1 年, 瓶间差均较小。结论 自制的低值和高值两个水平的尿液质控物质量符合要求, 可以应用于室内质控。

关键词:白蛋白尿; 转铁蛋白; 甲种球蛋白类; 质控品; 尿分析; 免疫球蛋白 G
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 13. 046 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)13-1731-01

尿液微量清蛋白(MA)、α1-微球蛋白(α1-MG)、转铁蛋白(TRF)和免疫球蛋白 G(IgG)的检测已广泛应用于肾脏疾病的早期诊断、病程分析和疗效观察。应用质控品监测精密度和准确度的改变是确保检测质量的重要手段。在使用进口特定蛋白分析仪中因配套进口液体质控品价格昂贵, 也没有质量稳定价格适宜的国产质控品供应, 所以影响了室内质控的开展。为解决这一问题, 开展了尿液 MA、α1-MG、TRF 和 IgG 的自制工作, 效果满意。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 仪器为美国贝克曼公司 IMAGE 特定蛋白分析, 使用配套试剂、校准品和质控品; 乙二醇、Triton x-100 和叠氮钠均为国产分析纯试剂。

1.2 特定蛋白质控物的制备 选择尿液 MA、α1-MG、TRF 和 IgG 异常升高的肾病患者尿液样本, 混匀, 3 000 r/min 离心 15 min, 弃上清液, 测定各蛋白浓度, 分别加入生理盐水、乙二醇、Triton x-100 和叠氮钠溶液以调整 MA、α1-MG、TRF 和 IgG 浓度, 分别制备 MA、α1-MG、TRF 和 IgG 高值和低值两种浓度质控品, 分装后-60 ℃保存。质控品中乙二醇、Triton x-100 和叠氮钠的终浓度分别为 30%(v/v)、0.1%和 0.02%。

1.3 瓶间差试验 随机抽取自制的 MA、α1-MG、TRF 和 IgG 高值和低值质控品各 20 瓶, 室温下溶解, 混匀备用。高值质控品编号为 A 到 T, 低值质控品编号为 a 到 t。在检测系统经用配套校准品校准、质控在控的条件下, 连续测定 A 号质控品和 a 号质控品各 20 次及 A 到 T 和 a 到 t 样本各 1 次。计算批内总不精密、测定不精密和瓶间不精密度^[1]。

1.4 稳定性试验 随机抽取自制的 MA、α1-MG、TRF 和 IgG 高值和低值质控品各 20 瓶, 室温下溶解, 并将 20 瓶质控品混合后混匀, 在仪器稳定的状态下连续测定 20 次, 计算均值和最佳条件下的批内变异(OCV)。分别于 1、6 和 12 个月抽取自制的质控品各 20 瓶, 室温下复溶, 并将 20 瓶质控品混合后混匀, 上机连续测定 20 次。比较不同保存时间段下质控品的变异情况^[2]。

1.5 细菌培养 每月进行 1 次。将自制尿液质控品接种于血平板上进行 48 h 培养。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 13. 0 统计软件包处理数据, 进行配对 *t* 检验, *P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 本室最佳条件下的批内变异 见表 1。

表 1 自制尿液质控物最佳条件下的批内变异(mg/L)

项目	$\bar{x}$	<i>s</i>	CV
高值 MA	30.5	0.64	2.1
低值 α1-MG	13.5	0.35	2.6
高值 α1-MG	44.0	1.01	2.3
低值 TRF	8.2	0.25	3.0
高值 TRF	29.1	0.73	2.5
低值 IgG	12.9	0.31	2.4
高值 IgG	45.2	0.85	1.9

2.2 瓶间差试验结果 MA、α1-MG、TRF 和 IgG 高值和低值质控品的批内总不精密、测定不精密和瓶间不精密, 见表 2。

表 2 自制尿液质控物瓶间差试验结果(CV%)

项目	MA		α1-MG		TRF		IgG	
	高值	低值	高值	低值	高值	低值	高值	低值
批内总不精密度	3.2	3.6	3.1	3.5	3.3	3.8	2.6	3.4
测定不精密度	2.1	2.4	2.3	2.6	2.5	3.0	1.9	2.4
瓶间不精密度	2.5	2.7	2.1	2.3	2.2	2.3	1.8	2.4

2.3 稳定性试验结果 自制质控品第 1、第 6 和第 12 月测试结果见表 3。不同时间段检测结果比较均无明显差异(*P*>0.05)。

2.4 细菌培养结果 经过 1 年时间培养观察, 未发现细菌的生长。(下转插 I)

(上接第 1731 页)

表 3 自制尿液质控物第 1、6 和 12 月稳定性试验结果 (n=20,mg/L)

项目	第 1 月			第 6 月			第 12 月		
	$\bar{x}$	s	CV	$\bar{x}$	s	CV	$\bar{x}$	s	CV
低值 MA	10.8	0.26	2.4	11.2	0.34	3.0	10.3	0.33	3.2
高值 MA	30.5	0.67	2.2	29.9	0.78	2.6	31.2	0.84	2.7
低值 α 1-MG	13.6	0.38	2.8	13.1	0.39	3.0	14.0	0.45	3.2
高值 α 1-MG	44.3	1.02	2.3	43.9	1.14	2.6	45.2	1.36	3.0
低值 TRF	8.1	0.25	3.1	8.5	0.30	3.5	8.2	0.30	3.7
高值 TRF	28.9	0.72	2.5	28.1	0.84	3.0	29.5	0.89	3.0
低值 IgG	12.8	0.32	2.5	12.2	0.34	2.8	13.1	0.37	2.8
高值 IgG	45.2	0.88	1.9	45.0	1.13	2.5	44.7	1.07	2.4

3 讨 论

尿液微量白蛋白、 α 1-微球蛋白、转铁蛋白和免疫球蛋白 G 的检测对肾脏疾病的诊疗有着重要的作用。为保证检测结果的准确可靠,必须开展室内质量控制,以确定检测报告是否可以发放。使用质量符合要求,且价格适宜的质控品是保证室内质控工作能够顺利进行的条件。因为进口配套质控品价格昂贵,也没有适合的国产代替品,所以通过自制质控品来保证室内质控的正常进行不失为一条有效的途径。

质控品的稳定性和瓶间差是质控品的两个重要性能,只有两者都符合要求,质控品才能起到监控实验室测定工作精密度变化和准确度改变的作用。通过连续测定多瓶自制质控品所得到的结果来计算出批内总不精密度,其中包括了瓶间差和仪器、操作人员的操作误差等带来的分析不精密度;用同一瓶质控品连续测定所得的结果来计算测定不精密度,此时获得的变异是由仪器和操作等因素造成的。根据批内总不精密度和测定不精密度计算出该批质控品真实瓶间差。自制质控物中加入的乙二醇具有稳定被分析物的作用^[3],叠氮钠具有抑菌防腐

功能。实验结果表明,自制质控品瓶间差较小,分装后放置—60℃保存,经过 1 年观察,所有被分析物稳定,瓶间差和稳定性均满足室内质控应用要求^[4]。

参考文献

[1] 张克坚,张丽,张传宝,等. 评价瓶间差的新方法[J]. 上海医学检验杂志,1999,14(3):177-178.
[2] 张剑英,陈文虎,张毅敏,等. 自制多项目复合肿瘤标志物冻干质控品的稳定性评价[J]. 浙江检验医学,2009,7(4):37-39.
[3] Premachandra P,Wood PL,Hill PG,et al. Preparation and stability of low-cost liquid quality- control serum stabilized with ethane-diol[J]. Clin. Chem,1987,33(6),851-852.
[4] 李顺君,黄文方,饶绍琴,等. 探讨制备尿液微量蛋白质质控液[J]. 现代检验医学杂志,2003,18(2):46-47.

(收稿日期:2012-11-23)

(上接第 1727 页)

3 讨 论

研究认为,铁是合成血红蛋白的重要成分。在骨髓的有核红细胞和肝细胞中,甘氨酸和琥珀酰辅酶 A 经胞质和线粒体一系列酶的作用下生成原卟啉Ⅸ,再在血红素合成酶的作用下与 Fe²⁺ 络合生成血红素,最后与在胞质中合成的珠蛋白结合生成血红蛋白。人体的铁大致分为两部分,一部分是正在执行生理功能的铁,包括血红素蛋白类物质、铁黄素蛋白类物质以及血浆转铁蛋白、乳铁蛋白中的铁;另一部分是储存铁,主要包括铁蛋白和含铁血黄素中的铁,存在于单核-巨噬细胞系统中。目前,主要利用骨髓穿刺后的骨髓渣(骨髓小粒)中单核-巨噬系统细胞的含铁血黄素多少来表明储存铁的状况,经普鲁士蓝染色染成蓝色颗粒的分布在细胞外的为细胞外铁,有核红细胞内蓝色铁颗粒为细胞内铁。因此,骨髓铁的染色检查对于诊断鉴别贫血类型是一种直接、可靠、简便重要的检查方法。

常规铁染色 20%亚铁氰化钾为饱和溶液,在气温较低时,需加温搅拌促溶;加浓盐酸时,须倍加小心以避免对操作人员造成损害。酸化后的亚铁氰化钾更易被氧化,所以要临用前新鲜配制。这样耗时费力,而低浓度的亚铁氰化钾易溶解,实验表明低浓度酸性亚铁氰化钾可行,分装后—40℃的低温保存防止了失效的发生。微波是一种电磁波,波长很短,但频率却很高,它可使微波场内的极性分子以每秒惊人速度进行运动,结果使极性分子彼此迅速发生反应。铁染色是 普鲁士蓝反应

加之微波的特性,加速了铁粒与亚铁氰化钾的化学反应,大幅度缩短了染色时间。实验证明此快速铁染色法方便、快捷、环保、安全,适合临床常规应用。

参考文献

[1] 杨晴英,方立环. 不同固定剂对铁染色效果的影响[J]. 诊断病理学杂志,2002,9(5):313-314.
[2] 周建中. 快速铁染色法的有效性研究[J]. 实用临床医学,2006,7(9):20.
[3] 王宏梅,李福德,姜永芳. 骨髓铁染色简化操作步骤的研究[J]. 临床血液学杂志,2008,21(7):377-378.
[4] 田露,郑文宏,汤萌,等. 两种骨髓铁染色方法的比较[J]. 实验与检验医学,2010,24(4):422.
[5] 周建中. 骨髓铁染色沉渣形成原因[J]. 中国误诊学杂志,2011,11(1):247.
[6] 张姝. 骨髓铁染色三种复染剂的方法学比较[J]. 护士进修杂志,2010,25(2):164-165.
[7] 余晓红. 骨髓铁染色方法的改进[J]. 临床军医杂志,2000,28(4):422.
[8] 刘志洁,黄文源. 实用临床血液细胞学图谱[M]. 北京:科学出版社,1996:25-26.

(收稿日期:2013-02-10)