

面临很多问题,首先没有自动化,难以标准化;其次遇到临界值标本时没有报告标准;在工作量日益增多的情况下人工进行体液细胞分析,速度太慢;对于几乎都是异常的体液标本,准确性、重复性很难保证,最值得注意的生物安全防护问题亟待解决。Sysmex XT-4000i 多功能血液、体液一体机实现了体液常规检查细胞计数的自动化,每小时 30 个样本的测试速度实现了此项检查的自动化,测试吸入样本量仅为 85 μL 。多通道参数保证了检测结果的准确性,其中研究参数中的高荧光细胞和嗜酸细胞绝对值、百分比为可疑性肿瘤样本的检测提供重要信息。本型号仪器因使用荧光流式细胞术,微小气泡或碎片没有干扰,不仅避免了手工计数繁琐、费工、费时和计数误差大的缺陷,而且生物安全防护问题也迎刃而解。

值得注意的是, Sysmex XT-4000i 多功能血液、体液一体机在用于体液细胞计数过程中,对于测定结果中胸腹水细胞数少于 $1\ 000 \times 10^6/\text{L}$ 的标本应进行充池计数,对于脑脊液红细胞计数应进行手工复核(外观为洗肉水样和血性样本除外);当散点图有 HF 和 EO 标记出现时,应对标本进行涂片染色,观

• 检验仪器与试剂评价 •

察鉴别异常细胞(肿瘤细胞、嗜酸细胞)可大大提高肿瘤细胞检出率。

体液细胞计数测定结果不能前后矛盾,要与患者的临床表现相结合,是符合疾病的病理过程的、有价值的、可以进行合理解释的结果, Sysmex XT-4000i 多功能血液、体液一体机检测速度快,效率高,重复精度好,充分反映了全自动分析的优越性,并且使体液常规的检测朝着标准化、定量化的方向发展。

参考文献

- [1] 刘宗香,李学军,张卫东. 自动血细胞分析仪与涂片镜检[J]. 华北煤炭医学院学报, 1999, 1(3): 227-228.
- [2] 马建党. UF-100 全自动尿沉渣分析仪在胸腹水细胞检测中的意义[J]. 中国医疗前沿, 2009, 4(14): 76.
- [3] 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: 313.

(收稿日期: 2013-03-08)

HCG 胶体金试纸条检测血清 HCG 的性能评价及其在估算血清 HCG 水平中的应用

赵艳华,姜朝新,曾令恒,曾庆洋,和仕进

(广东省佛山市南海区第三人民医院检验科, 广东佛山 528244)

摘要:目的 评价“早早孕”试纸条(胶体金免疫层析法)检测血清中人绒毛膜促性腺激素(HCG)的检测性能以及其在估算血清 HCG 水平中的应用。方法 通过与化学发光法比较,从最低检出限、重复性、灵敏度、特异性以及试纸条的显色情况等方面评价大卫“早早孕”试纸条检测性能。结果 大卫试纸条检测血清 HCG 的最低检出限为 24.5 mIU/mL,以化学发光检测值 10 mIU/mL 为诊断界限,大卫试纸的灵敏度为 96.43%,特异性为 100.0%,诊断准确度为 96.92%。试纸条显色方面,大卫试纸条检测线与质控线的显色均匀,显色带边缘清晰,具有明显层次感。结论 大卫试纸条具有良好检出低限、重复性、灵敏度、特异性,在显色方面显色均匀,显色带边缘清晰,具有明显层次感,有利于估算血清 HCG 的含量。

关键词:胶体金免疫层析法; 人绒毛膜促性腺激素; 性能评价

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.047

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)15-2016-03

人绒毛膜促性腺激素(HCG)是胎盘合体滋养层细胞分泌的一种具有促进性腺发育的糖蛋白激素,当受精卵植入子宫内壁发育成胚胎时胚胎表面的滋养层细胞分泌高浓度的 HCG,并进而进入母体血液循环^[1]。检测血清或尿液中的人绒毛膜促性腺激素(HCG)已成为正常早孕、异位妊娠、滋养细胞肿瘤、肝癌等疾病诊断与鉴别诊断的重要方法^[2]。目前通过检测 HCG 以辅助诊断早期妊娠的检验方法有多种,其中胶体金免疫层析法(GICA)因具有简便快速,易于储存,不需特殊仪器设备而被广泛应用。同时也广泛应用于初步估算血清 HCG 浓度来估计化学发光检测的稀释倍数。本文通过与化学发光法比较,从检出低限、重复性、灵敏度、特异性以及试纸条的显色情况等方面评价“早早孕”试纸条的检测性能及探讨其在化学发光上估计稀释倍数的应用。

1 材料与方 法

1.1 样品来源 65 例样品为本院 2012 年 5 月 16 日至 2012 年 5 月 20 日门诊及住院患者血清,均无明显溶血、脂血、黄疸,其 HCG 的含量已经由化学发光法测出。

1.2 仪器与试剂 西门子 Centaur XP 化学发光免疫分析仪,

HCG 检测范围为 2~1 000 mIU/mL,原装配套试剂及校准品。质控品为美国伯乐公司生产的化学发光质控物,低、中、高值批号分别为 40231、40232、40233。大卫“早早孕”检测试纸(胶体金法)由润和生物医药科技(汕头)有限公司提供,批号: 20120205,有效期至 2014 年 01 月,生产许可证:粤食药监械生产许 20030850 号,注册号:粤食药监械(准)字 2008 第 2400279 号。

1.3 方 法

1.3.1 最低检出限试验 将已由化学发光法检测定量的浓度为 392.6 mIU/mL 的标本用生理盐水稀释成 392.6、196.3、98.2、49.1、24.5、12.3、6.1、3.1、1.5 mIU/mL 共 9 个样本,同时以生理盐水为阴性对照,每个样品用试纸条重复测定 3 次。

1.3.2 重复性试验 选取 2 份在试纸条检测临界值附近样品,浓度分别为 25.6、33.4 mIU/mL,每个样本用试纸条重复测定 10 次。

1.3.3 诊断性能 选取 65 例化学发光检测浓度为 2.0~200 000 mIU/mL 范围的样品,应用试纸条对每个样品进行一次检测。以化学发光法所测值为真值。小于或等于 10 mIU/

mL 为阴性, 大于 10 mIU/mL 为阳性, 将试纸条测定结果和化学发光法测定结果进行比较, 评价试纸条的灵敏度、特异性、诊断准确度等。

1.3.4 试纸条的显色情况对比 将上述样品按浓度从低到高顺序排列, 观察两种试纸条检测后显色情况以及其梯度的变化。以上的具体操作均在常温下严格按照说明书操作, 将试纸条下端插入样品血清中, 其深度不宜超过 MAX 线, 5 s 后取出平放, 10 min 时观察结果。

1.3.5 结果的判定 有效: 质控区出现红色条带; - (阴性): 检测区无条带, 质控区出现条带; ± (弱阳性): 检测区有微弱红色的条带, 质控区出现条带; + (阳性): 检测区较为明显红色条带但条带的颜色比质控区条带要浅, 质控区出现条带; ++ (强阳性): 检测区有明显的红色条带且条带的颜色与质控区条带相近或比质控区条带要深, 质控区出现条带。

2 结果

2.1 最低检出限试验 在 HCG 浓度为 24.5~392.6 mIU/mL 试纸条的检测结果均为弱阳性, 在浓度为 0~12.3 mIU/mL 时, 试纸条检测均为阴性。

2.2 重复性试验 试纸条检测 HCG 浓度分别为 25.6、34.4 mIU/mL 两个样品的 10 次, 结果试纸条带的显色均一, 均显示为弱阳性。

2.3 诊断性能 65 例样品的检测结果, 见表 1。经计算得出大卫试纸条的诊断灵敏度为 96.43%, 诊断特异性为 100%, 阳性预示值为 100%, 阴性预示值为 81.82%, 诊断准确度为 96.92%。

表 1 两种试纸条诊断性能的检测结果 (n)

大卫试纸条	化学发光		合计
	阳性	阴性	
阳性	54	0	54
阴性	2	9	11
合计	56	9	65

2.4 试纸条的显色情况 选取部分浓度值试纸条检测结果的具体显色情况。大卫试纸条的显色浓厚、均匀, 条带的边缘清晰而且层次感突出。在不同的浓度范围, 试纸条的检测线与和质控线呈现出一定的规律变化, 利用这种规律的变化可以用于初步估算血清中 HCG 含量有利于选择合适的稀释倍数。

3 讨论

免疫胶体金技术作为一种新的免疫学方法, 在生物医学各领域得到了日益广泛的应用^[3]。在检验医学中的应用主要是免疫层析法和快速免疫金渗滤法, 用于检测 HBsAg、HCG 和抗双链 DNA 抗体等, 具有简单、快速、准确和无污染等优点^[4]。试纸条的检测原理为以胶体金颗粒作为示踪物标记鼠抗人 HCG β 链单克隆抗体 (McAb)、羊抗人 HCG 和羊抗鼠 IgG 多克隆抗体, 应用大分子物质加以保护, 并固化于硝酸纤维素膜上。待检 HCG 在检测区域形成 McAb-HCG-羊抗人 HCG 双抗体夹心抗原抗体复合物, 呈现紫红色。对照区域形成 McAb-羊抗鼠 IgG 多克隆抗体复合物, 也呈现紫红色^[5]。随着 HCG 胶体金试纸条的广泛应用, 在 2009 年国家食品药品监督管理局颁布了行业标准 YY/T1164-2009《人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 检测试纸 (胶体金免疫层析法)》对产品的分

析性能提出相关要求。主要在试纸条的最低检测限、重复性、特异性、稳定性方面作了明确要求。在本次试验中, 大卫试纸条的最低检测限为 24.5 mIU/mL, 达到了标准中不高于 25 mIU/mL 的要求^[6]。试纸条的重复性试验表明了试纸条的反应一致, 显色度均一, 具有良好的重复性。本实验显示, 与化学发光法相比, 大卫试纸条的灵敏度为 96.43%, 特异性为 100%, 阳性预示值为 100%, 阴性预示值为 81.82%, 诊断准确度为 96.92%。在 56 例阳性标本中, 有 2 例大卫试纸条检测为阴性。

随着化学发光技术的不断成熟与发展, 现在临床实验室基本上配备了化学发光免疫分析仪, 但由于化学发光的试剂及耗材均比较昂贵, 且在 HCG 检测方面其线性范围相对比较窄 (2.0~1 000 mIU/mL), 因此如何准确地估算血清 HCG 浓度值避免不必要的重检已成为节约成本的重要手段。因此本文特进行了试纸条在浓度为 2.0~200 000 mIU/mL 的显色对比, 以寻求更准确估算血清 HCG 的方法。大卫试纸条的显色浓厚、均匀, 条带的边缘清晰而且层次感突出。在不同的浓度范围, 试纸条的检测线与和质控线呈现出一定的规律变化, 利用这种规律的变化可以用于初步估算血清中 HCG 含量有利于选择合适的稀释倍数。在浓度值 33.9~888.3 mIU/mL 范围内, 试纸条检测区条带前后显色有一定的梯度变化, 条带的前面部分比后面颜色要深些 (检测带的拖尾现象), 而且检测线比质控线明显较浅。其原因可能为 HCG 抗原量较少其形成 McAb-HCG 也较少, 导致检测区羊抗人 HCG 前面部分捕获 McAb-HCG 较多, 而越往后就越少, 其显色也就越浅。这种情况下机检测 HCG 浓度时不需要稀释。在浓度值为 1 797.7~4 180.6 mIU/mL 范围内, 试纸条的检测区条带随着样品浓度的增高而逐渐加深但检测条带还是有拖尾的现象, 而且检测线与质控线颜色的深浅程度相当, 这种情况下机检测 HCG 浓度时稀释 5 倍即可。在浓度值为 4 180.6~91 052.4 mIU/mL 范围, 试纸条的检测区条带随着样品浓度的增高而逐渐加深而且条带的显色均匀, 而质控线却比检测线颜色要浅。这是因为大量的 HCG 已经与 McAb 形成复合物并在检测区与羊抗人 HCG 结合, 使到最终到达质控线的 McAb 减少所致。这种情况下机检测 HCG 浓度时需进行 10 倍或 100 倍的稀释。在浓度为 108 526.4~200 000 mIU/mL 时, 检测线逐渐变浅而显色均匀, 质控线变深, 其原因可能为在浓度大于或等于 100 000 mIU/mL 时产生钩状效应所致^[6]。过量的 HCG 与 McAb 结合后, 还有部分 HCG 直接跟羊抗人 HCG 结合, 最终导致检测区条带显色变浅而且均匀, 这与低浓度水平呈现的条带是有区别的。这种情况下机检测 HCG 浓度时需进行 200 倍或更高倍数的稀释才能检测出来。

本实验所采用的试纸条具有良好的最低检测限、重复性、灵敏度以及特异性。试纸条的显色浓厚、均匀, 条带的边缘清晰而且层次感突出。在不同的浓度范围, 试纸条的检测线与和质控线呈现出一定的规律变化, 利用这种规律的变化可以用于初步估算血清中 HCG 含量更有利于选择合适的稀释倍数, 以减少不必要的重测, 节约成本。

参考文献

[1] 张秀明, 李健斋, 魏明竟, 等. 现代临床生化检验学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2001: 646-649.

- [2] 王梅,康红,李月,等. 胶体金免疫层析法检测尿 HCG 的质量控制方法探讨[J]. 西部医学, 2005, 17(6):643.
- [3] 马丽国,徐兴伟. 两种 β -HCG 检测方法的结果对比[J]. 中华临床医学研究杂志, 2007, 13(9):1249-1249.
- [4] 李莉,任林柱,逢大欣,等. 抗人血清蛋白单克隆抗体的制备及其免疫金标试纸条的研制[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(11):2028.

- [5] 罗春丽. 临床检验基础[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012:158-160.
- [6] 张新梅,张宏,章兆园. 人绒毛膜促性腺激素测试条(胶体金免疫层析法)的性能评价[J]. 中国医疗器械信息, 2008, 14(4):19-22.

(收稿日期:2013-03-13)

• 检验仪器与试剂评价 •

ARCHITECT i2000SR 化学发光分析仪检测 胃泌素释放肽前体的性能评价

朱安友,王凤超,葛鑫,张伦军

(蚌埠医学院第一附属医院检验科,安徽蚌埠 233004)

摘要:目的 评价 ARCHITECT i2000SR 化学发光仪检测胃泌素释放肽前体(ProGRP)的分析性能。方法 按照美国临床实验室标准化委员会(CLSI)方法学评价系列文件,对 ARCHITECT i2000SR 化学发光仪检测 ProGRP 的精密度、准确度、灵敏度、分析测量线性范围和分析抗干扰能力等指标进行评价,并与厂商声明的性能和有关质量标准进行比较。结果 ARCHITECT i2000SR 化学发光仪检测 ProGRP 的批内 CV 和总 CV 分别为 2.83%~3.26% 和 4.1%~5.16%, ProGRP 回收率为 97.44%~102.41%, 功能灵敏度在 1.025 pg/mL 左右,分析测量线性范围 22.3~4 815.8 pg/mL, 血红蛋白(2 g/L)、胆红素(400 mg/L)、乳糜(1670 FIU)对 ProGRP 检测无干扰。结论 ARCHITECT i2000SR 化学发光仪检测 ProGRP 的主要分析性能指标达到了厂商声明要求,能满足临床需要。

关键词:化学发光; 胃泌素释放肽前体; 性能评价**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.048**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2013)15-2018-03

国际标准化组织颁布的《医学实验室质量和能力的专用要求》(ISO15189)和我国《医疗机构临床实验室管理办法》都对检测系统及方法的分析性能进行有效性评价,证实其能够达到临床检测要求的标准。胃泌素释放肽前体(ProGRP)是小细胞肺癌(SCLC)一种新的肿瘤标志物,对 SCLC 早期诊断、疗效判断及预后分析等方面的价值,受到了临床的广泛关注^[1-2]。本研究根据美国临床实验室标准化委员会(CLSI)相关文件的要求,并结合本实验室实际,评价了 ARCHITECT i2000SR 化学发光分析仪检测 ProGRP 的分析性能,为保证检测结果达到临床要求提供依据,现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 ARCHITECT i2000SR 全自动化学发光免疫分析仪(美国雅培公司)及其配套 ProGRP 检测试剂盒、标准品和质控品,试剂均在有效期内使用。

1.2 方法

1.2.1 精密度评价 按照美国临床实验室标准化委员会(CLSI) EP5-A2^[3]评价方案,选择 ProGRP 高、中、低水平患者血浆标本各 1 份,分装 20 管,贮存于 -40℃ 冰箱,每天各取 1 管,室温下融化,混匀后每天上、下午各测定 1 次,每个标本每次测定均作双份,每次测定做一个质控,连续测定 20 d,计算批内不精密度和总不精密度。

1.2.2 准确度评价 采用回收试验方法^[4],选择 ProGRP 低水平患者血浆标本 1 份(14.6 pb/mL),分别与 ARCHITECT 定标液 C(80 pg/mL)、D(320 pg/mL)、E(1 250 pg/mL)等量混合,使 ProGRP 水平为高、中、低 3 个浓度水平,每份检测 3 次,取均值计算回收率。

1.2.3 功能灵敏度评价 实验参照 CLSI EP17-A^[5]评价方

案,选择 ProGRP 低水平患者血浆标本 1 份(16.4 pg/mL)。将血浆标本用 ARCHITECT 定标液 A(0 pg/mL)作 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64 倍比稀释,每份标本每天测定一次,每次测定双份,连续 10 d,分别计算原倍血浆和各稀释度的相对光单位(RLU)平均值,标准差和变异系数,以 CV 具有或最接近于 20% 所对应的检测限样品浓度值即为 ProGRP 功能灵敏度。

1.2.4 分析测量线性范围评价 实验按照 CLSI EP6-A2^[6]评价方案,分别收集 ProGRP 浓度水平接近厂商声明的分析测量范围下限和上限的低值样本(L, 22.6 pg/mL)和高值样本(H, 4 864.8 pg/mL),按照 6L+5L+1H、4L+2H、3L+3H、2L+4H、1L+5H 和 6H 不同比例混合,形成系列评价样本,每份重复测定 2 次。在重复测定不精密度符合实验要求的条件下,以两次测量的平均值为实测值和计算的预期值进行多项式回归分析,将所得数据拟合为一次($Y=b_1X+b_0$)、二次($Y=b_2X_2+b_1X+b_0$)和三次($Y=b_3X_3+b_2X_2+b_1X+b_0$)多项式,依据非线性系数 b_3 、 b_2 数与 0 之间差异是否具有统计学意义,判断实验所检测的浓度范围是否为线性。

1.2.5 干扰试验 根据 CLSI EP7-A2^[7]评价方案,收集 ProGRP 高、中、低 3 个浓度的血浆标本各 1 份,干扰物和空白对照为含有血红蛋白、直接胆红素和乳糜的日本 Sysmex 公司 A-Plus 干扰试剂盒。干扰物和空白对照干粉各用 2.0 mL 蒸馏水复溶后分别作为干扰物贮存液和空白液。然后将贮存液和空白液以一定比例与上述血浆标本混合后,测试样本的干扰物终浓度分别为血红蛋白(2 g/L)、胆红素(400 mg/L)、乳糜(1 670 FIU),每份标本重复测定 3 次,计算干扰率。干扰率 = (测试样本各组均值 - 相应对照样本均值) / 对照样本均值 × 100%。