

有精密度高,灵敏度好,结果准确和线性范围宽等优点,符合质量目标要求,能够为临床 SCLC 的早期诊断和疗效分析提供可靠依据。

参考文献

- [1] 杨兴,孙桂荣,丛培珊,等.胃泌素释放肽前体对小细胞肺癌的诊断价值[J].中华检验医学杂志,2012,35(8):736-741.
- [2] 陈永健,金卫东,杨广宇,等.血浆胃泌素释放肽前体,细胞角蛋白 19 和癌胚抗原对各型肺肿瘤的诊断价值[J].中华实验和临床病毒学杂志,2011,25(5):381-383.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [4] 毕波,吕元.定量检测方法学性能验证的系统设计[J].中华检验医学杂志,2007,30(2):143-145.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP17-A Protocols for

determination of limits of detection and of quantitation; approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.

- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA: CLSI, 2003.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP7-A2 Interference testing in clinical chemistry [S]. Wayne, PA: CLSI, 2005.
- [8] 孟补荣,张保平,宿瑞俊,雅培 ARCHITECT I2000 化学发光仪 CA125 的方法学性能评价[J].内蒙古医学院学报,2009,31(6):696-698.
- [9] 张秀明,庄俊华,郑松柏,等.临床化学发光免疫法检测 AFP 的分析性能验证与实验方法[J].中华检验医学杂志,2007,30(11):1293-1297.

(收稿日期:2013-03-17)

• 检验仪器与试剂评价 •

自制血红蛋白电泳质控品临床应用的评价

袁明生¹,李程^{1,2}

(1. 广东医学院附属陈星海医院检验科,广东中山 528415;2. 广东医学院 2008 级检验系,广东湛江 524023)

摘要:目的 探讨自制血红蛋白电泳质控品在室内质控(IQC)中的应用价值。方法 采集健康人静脉血后,提取、纯化血红蛋白液,分装后-20℃保存作为室内质控品,采用 Hydrasys 全自动电泳系统进行检测,定值后,分析其精密度和稳定性。结果 -20℃分装保存 7 个月的自制血红蛋白电泳质控品冻溶后外观红色均匀,无浑浊及沉淀。自制质控品用于室内质控活动时,其均数±标准差为 2.30%±0.07%,与第 2、4、7 月累积结果进行方差分析,差异无统计学意义($F=0.063, P>0.05$);批内不精密度为 3.0%,批内天间不精密度 3.1%(7 个月),均小于商品化质控品的 3.5%。经线性回归分析,自制质控品与商品化质控品质控效果呈正相关(相关系数为 1)。结论 自制血红蛋白电泳室内质控品具有良好的稳定性和重复性,能满足室内质量控制的要求,可替代其商品化质控品。

关键词:血红蛋白电泳;室内质控品;自制;临床应用

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.049

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)15-2020-02

地中海贫血(Thalassemia)亦称珠蛋白合成障碍性贫血,是一组全球最常见、对人类健康影响极大的单基因遗传病,我国以长江以南发病率最高,是一种“可防难治”的遗传性疾病,因此,在育龄人群中开展地中海贫血筛查,预防重型地贫儿的出生,是行之有效的预防措施^[1]。但用于确诊地贫的基因检测由于操作繁琐、费用高、实验条件要求苛刻,使其难以广泛应用于临床,不能作为地贫诊断的首选,因此地贫的筛查就显得尤为重要,筛查的方法有 MCV 和血红蛋白(Hb)电泳等^[2-4]。为了保障血红蛋白电泳结果的准确性,室内质控是保证试验结果准确的重要措施,质控品则是进行室内质控的关键因素之一。目前商品自动化电泳系统配备有蛋白质电泳质控品,但价格昂贵、影响实际应用(尤其是基层医院)。本研究主要探索血红蛋白电泳室内质控品的制备方法,通过对自制质控品精密度、稳定性等参数进行分析,探讨自制血红蛋白电泳室内质控品临床应用的可行性。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 法国 Sebia 公司提供的 Hydrasys 全自动电泳系统及配套血红蛋白测定试剂盒,配套正常 Hb A2 质控品(批号:04041/01),Epson1640SU 扫描仪;上海康禾旋涡混合器 H-1;厦门星鲨制药有限公司提供的甘油;衡阳市凯信化

工试剂有限公司提供的甲苯。

1.2 方法

1.2.1 纯化血红蛋白的制备 采集健康人肘正中静脉血液 5.0 mL 于肝素抗凝剂真空管,充分混匀,4 000 r/min 离心 5 min,弃去血浆,留下红细胞,加 0.9% NaCl 溶液充分洗涤后离心,弃去上清液及血细胞比容上面由白细胞、血小板等形成的一层淡黄白色薄膜,留下红细胞,重复上述步骤,洗涤 3 次。加与红细胞等体积浓度为 60% 的甘油和 1/2 红细胞体积的甲苯,混合均匀后在旋涡混合器上振荡 20 min,置于 4℃冰箱过夜达大于 12 h。第 2 天取出后 4 000 r/min 离心 4 min,可见试管中分 3 层:上层为甲苯,中层为红细胞膜、类脂质碎片、甲苯混合物,下层为纯化血红蛋白液。用长针头插入试管底部,吸取底层纯化血红蛋白液立即进行分装保存。

1.2.2 分装与保存 用带盖的 0.5 mL 离心管立即对制备的血红蛋白液进行分装分装每管 25 μL,共 96 管,盖紧,外用封口胶封口(防脱水),储存于-20℃冰箱内。每次取一管质控品解冻平衡室温后使用,避免反复冻融。

1.2.3 自制质控品的制备和使用方法 纯化 Hb 室温平衡 15 min 后,吸取室温平衡后的 10 μL 质控品与 50 μL Sebia 配套溶血剂于洁净干燥的玻璃试管中,充分混合均匀,即自制的血

红蛋白质控品,吸取 10 μ L 混合液到 Hydrasys 全自动电泳系统配套加样孔内,与商品化配套 Hb 质控品、标本同时按常规进行电泳操作。

1.2.4 质控品定值和批内精密度 商品化配套质控品和自制质控品均按 Sebia Hydrasys 全自动电泳系统操作说明书进行常规操作,同一天内测定 20 次,统计商品化配套质控品室内质控在控的 20 次自制质控品结果的平均数、标准差及 CV,得出自制质控品的预期靶值和批内精密度。

1.2.5 日间精密度及稳定性 自制的血红蛋白电泳质控品和商品化配套血红蛋白电泳质控品每 3 天随常规标本测定 1 次。统计商品化质控品室内质控在控的累积 2、4、7 月的自制血红蛋白电泳质控品 Hb A 值、HbA2 值和 CV 值,并分别与预期靶值进行 *t* 检验。

1.2.6 自制血红蛋白电泳质控品在室内质控中的应用 用经稳定性观察在 6 个月以上作为本实验室的血红蛋白电泳的内部质控品,与临床检测样本同时检测,用 12S 作为警告规则,13S/22S/R4S 作为失控规则,对失控数据点进行误差类型及其原因分析,并采取相应纠正措施;CV 值控制在 10% 以内。

1.3 统计学处理 采用 Excel 软件作质控图和 SPSS17.0 统计软件作相关统计,数据以 $\bar{x}$, *s*, CV% 表示,多组数据间比较用 *F* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。两者相关性采用线性回归分析。

2 结 果

2.1 外观与性状 储存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱的自制质控品,解冻平衡至室温后,为红色澄清液体,无凝块、无沉淀,液体无分层,色泽均一。

2.2 自制质控品定值和批内精密度 自制血红蛋白室内质控品 Hb A2 的均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 分别为 2.30% $\pm$ 0.07%, CV 值为 3.0%。商品化正常 Hb A2 质控品的 $\bar{x} \pm s$ 为 2.3% $\pm$ 0.08%,在正常参考范围是 2.0% ~ 2.5% 内, CV 值为 3.5%。

2.3 日间精密度及稳定性 自制质控品与商品化质控品与标本同时测定, Hb A2 在 2、4、7 月累积的均数分别为 2.29%、2.29% 和 2.29%,标准差分别为 0.06%、0.06% 和 0.07%, CV 值分别为 2.6%、2.6%、3.1%,并与自制质控品的定值比较,经多组比较的方差分析, Hb A2 之间的差异均无统计学意义 (*F* = 0.063, *P* = 0.979)。

2.4 自制质控品与商品化质控品质控效果比较 见图 1,经相关回归统计分析,相关系数为 1,两者呈高度正相关。

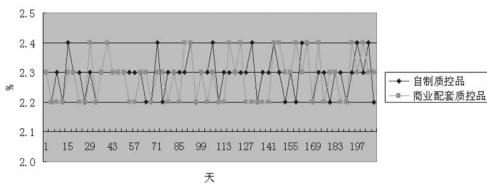


图 1 自制质控品与商品化质控品质控效果比较

3 讨 论

地中海贫血目前尚无有效的根治方法,控制本病的可行方法就是预防重型地贫儿的出生,而预防的关键是在妊娠妇女及其丈夫中进行地中海贫血携带者的筛查,并对高危人群(夫妇为同型地贫患者)配合基因诊断和产前诊断。在筛查实施过程

中,血红蛋白电泳起到了非常重要作用,为进一步进行基因诊断和遗传咨询提供基础^[5],对减少重型地贫儿的出生率,降低围生儿病死率,提高人口素质具有重要意义^[6-7]。室内质量控制是获取准确可靠的血红蛋白电泳结果、确立报告能否发出的前提保障^[8],而质控品是保证室内质控的必不可少物质基础。鉴于商品化血红蛋白电泳室内质控品价格昂贵、影响临床实际检测的应用,本研究通过采集正常人静脉血,利用甘油、甲苯等试剂提纯血红蛋白液制备血红蛋白电泳室内质控品,材料来源充足、试剂价格低廉,制备方法简单可行。

本实验数据显示:自制血红蛋白电泳室内质控品 7 个月 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存溶解后,无凝块、无沉淀,液体无分层,色泽均一,其均质性好;在 2、4、7 个月累积的均数与自制质控品定值的差异无统计学意义 (*F* = 0.063, *P* = 0.979),其标准差和 CV 均少于与商品化配套血红蛋白质控品,且变异系数均不超过 5%,按卫生部临床检验中心文件的有关要求:酶项目 CV 小于 2%,其他项目 1%,经存放后不稳定物的 CV 不能超出原来的 1.5 倍。自制室内质控品 CV 值应控制在 10% 以内^[9],本实验自制室内质控品稳定性好,重复性好,在 -20 $^{\circ}$ C 储存至少可以稳定 7 个月,究其原因是:(1)甘油有吸水作用,可以使提纯的血红蛋白脱水,相当于干粉易保存的作用。(2)甘油有使血红蛋白与氧气避免接触的作用;(3) -20 $^{\circ}$ C 储存。

综上所述,本研究自制的血红蛋白电泳室内质控品稳定性好,能满足日常室内质控的要求,具有原料来源方便,价格便宜,制备方法简单、易于操作,方便临床检测应用等优势,有利于各级医院特别是基层医院室内质量控制(IQC)的开展。

参考文献

- [1] 陈忠领,魏新燕,范美珍,等. 血红蛋白电泳在地中海贫血筛查中的应用价值[J]. 现代预防医学,2007,34(6):1132-1134.
- [2] 刘丹,李雪丹. MCV、MCH、RBC 计数和血红蛋白电泳在地中海贫血筛查中的诊断价值[J]. 中国妇幼保健,2010,8(13):29-31.
- [3] 何聚莲,余志衡,唐林国,等. 三种红细胞指标在地中海贫血出生干预筛查中的价值[J]. 实用医学杂志,2010,26(6):974-976.
- [4] 司徒文慈,阙贵珍,胡映红,等. MCV、RDW 和 RBC 脆性在产前筛查地中海贫血中的价值[J]. 实用医学杂志,2011,7(16):125-127.
- [5] 蒙天生,莫鸿健. 全自动血红蛋白电泳在诊断地中海贫血中的应用[J]. 实用医学杂志,2009,25(10):1694-1695.
- [6] 张立军,刘艾芹,钟利若. 孕 16-28 周胎儿脐血 β 地中海贫血基因及其血红蛋白电泳、红细胞参数变异分析[J]. 中国当代医药,2011,18(16):86-88.
- [7] Srivorakun H, Fucharoen G, Changtrakul Y. Thalassemia and hemoglobinopathies in Southeast Asian newborns: diagnostic assessment using capillary electrophoresis system[J]. Clin Biochem, 2011,44(5/6):406-411.
- [8] 孙红,鲁婷. 甲胎蛋白、癌胚抗原室内质控的制备及应用[J]. 实用医技杂志,2010,17(8):740-741.
- [9] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:88-89.

(收稿日期:2013-03-20)