

总之,完整的检测系统才有较好的精密度和准确度,对于结果才能得以保证,应用 Westgard 方法评价图可对运用的检测系统进行分析性能评价,简便易行,适合临床实验室许多项目的应用。

参考文献

[1] 张秀明,庄俊华,徐宁,等.不同检测系统血清酶测定结果的偏倚评估与可比性研究[J].中华检验医学杂志,2006,29(4):346-349.
[2] 从玉隆.临床实验室管理[M].北京:中国医药科技出版社,2004:48-50.
[3] 冯仁丰.临床检验质量管理技术基础[M].上海:上海科学技术文献出版社,2003:144-150.
[4] 张秀明,郑松柏,孙蕾,等.运用 Westgard 方法评价决定图判断生化检测系统性能的可接受性[J].中华检验医学杂志,2007,30(1):86-90.
[5] 李萍,刘小娟,徐克和,等.利用 Westgard 标准决定图判定测定方

法性能[J].临床检验杂志,2006,24(1):69-70.
[6] Ricós C,Alvarez V,Cava F,et al.Current databases on biological variation:pros,cons and progress[J].Scand J Clin Lab Invest,1999,59(7):491-500.
[7] 王治国.临床检验方法确认与性能验证[M].北京:人民卫生出版社,2009:276-277.
[8] Westgard JO,Burnett RW.Precision requirements for cost-effective operation of analytical processes[J].Clin Chem,1990,36(9):1629-1632.
[9] Jenny RW,Jackson KY.Evaluation of the rigor and appropriateness of CLIA'88 toxicology proficiency testing standards[J].Clin Chem,1992,38(4):496-500.
[10] 张秀明,李炜焯,郑松柏,等.不同检测系统 17 项常规生化结果的比对和偏倚评估[J].检验医学,2007,22(2):166-170.

(收稿日期:2013-05-03)

• 检验技术与方法 •

胶体金法 N-末端脑钠肽检测在呼吸困难患者中的临床应用

耿伏生

(安阳市灯塔医院检验科,河南安阳 455000)

摘要:目的 探讨胶体金法快速检测 N-末端脑钠肽在临床的应用价值。方法 选取 2011 年 2 月至 2012 年 10 月在该院就诊的 51 例心源性呼吸困难的患者和 63 例非心源性呼吸困难的患者及 60 例健康体检者,采用胶体金法定量检测上述人群血浆中的 N-末端脑钠肽水平,进行统计分析。结果 51 例心源性呼吸困难的患者血浆 N-末端脑钠肽水平升高,而 63 例非心源性呼吸困难的患者未出现升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 胶体金法 N-末端脑钠肽检测适用实验室检测及床旁检测,且具有简单、快捷、敏感性和特异性较高的特点。

关键词:胶体金; 利钠肽,脑; 呼吸困难

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.16.044

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)16-2154-02

N-末端脑钠肽是一种新的心肌功能损害的标志物,近年来研究发现它比脑钠肽(BNP)具有更高的敏感性和特异性,优于临床诊断标准^[1]。N-末端脑钠肽无生物活性,半衰期长,血浆浓度高,同时 N-末端脑钠肽在外周血中较稳定,所以它比 BNP 更能反映心功能受损情况,当心功能受损时,血浆中 N-末端脑钠肽增高的比例与绝对值均比 BNP 高^[2-3],由于其与 BNP 具有良好的相关性,故其在检测心肺方面疾病的应用逐渐受到重视。国内外对 N-末端脑钠肽在心力衰竭及呼吸困难的临床应用中进行了广泛地研究和报导,普遍认为在鉴别心源性呼吸困难和非心源性呼吸困难具有重要的临床指导意义^[4]。本研究通过胶体金法检测 N-末端脑钠肽,探讨其在呼吸困难中应用价值,旨在寻找一种快捷、敏感、特异的检测方法,为临床医师提供可靠地鉴别诊断依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 2 月至 2012 年 10 月在本院急诊科就诊的因呼吸困难为主要症状的 114 例患者,以明确诊断的心源性呼吸困难的(51 例)和非心源性呼吸困难的(63 例)作为研究对象,以 60 例健康体检者作为对照组。研究对象和对照组在年龄结构、性别比例、婚姻、职业等方面差异均无统计学意义。

1.2 仪器与试剂 采用深圳瑞莱生物工程公司注册生产的多功能免疫分析仪和试剂盒。

1.3 方法 入院患者由临床医师根据患者心电图、心脏彩超、胸部 X 线、肺功能等明确诊断后,采静脉血 3 mL 于 EDTA-K₂

抗凝的负压管内混匀 5~6 次。采用深圳瑞莱生物工程公司注册生产的多功能免疫分析仪于 20 min 内进行检测,取 120 μ L 全血加入测试板,质控和样本严格按照说明书操作,20 min 即可出结果。对照组也进行同样的检测。

1.4 统计学处理 使用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

N-末端脑钠肽检测结果及比较,心源性呼吸困难组 N-末端脑钠肽检测浓度为(3 612 $\pm$ 1 245)pg/mL,高于非心源性呼吸困难的(301 $\pm$ 101)pg/mL($P<0.05$);心源性呼吸困难组高于对照组的(272 $\pm$ 89)pg/mL($P<0.05$)。对照组与非心源性呼吸困难组间未见明显差异($P>0.05$)。

3 讨论

N-末端脑钠肽主要来源于心室肌细胞的多肽类心脏神经激素。当左心室容量负荷压力过大或收缩强度增加时,心源性激素前体脑钠肽原被释放出来,后被分解为由 76 个氨基酸组成的无生物学活性的 N 末端脑钠肽与 32 个氨基酸组成的具有生物活性的脑钠肽。充血性心力衰竭时,血中 N-末端脑钠肽和脑钠肽浓度明显升高^[4-6],BNP 主要功能是利尿、利钠、扩张血管、抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统及交感神经系统的活性。张丽等^[7]研究表明 N-末端脑钠肽是独立的心血管事件的再发生的危险因素,N-末端脑钠肽每升高 10 倍,心血管事件再发生危险就会增加 4.30 倍。

N-末端脑钠肽分子与 BNP 分子以 1 : 1 的比例存在于血循环中, 由于其在血液半衰期长(60~120 min), 生理活性相对稳定, 低浓度的胆红素、血红蛋白不会影响体外检测, 但高浓度的脂血, 严重的溶血或黄疸会影响到样本以及偶合物在硝基纤维膜上的层析过程, 所以在检测 N-末端脑钠肽时, 应避免此类样本。

胶体金法作为第三代检测方法, 逐渐应用于床旁检测与实验室检测, 其主要特点是速度快、便捷, 多通道仪器适用于批量分析。

通过本组研究表明, 胶体金法检测 N-末端脑钠肽来鉴别心源性呼吸困难和非心源性呼吸困难是一个可靠的快速检测方法, 且能够真实反应体内 N-末端脑钠肽水平, 能在较短时间内为临床医师提供敏感、特异的诊断指标, 为临床医师赢得时间, 及时采取干预措施, 值得为临床所推广。所以笔者认为由于胶体金法检测 N-末端脑钠肽的简便、快速(20 min 结束), 在得到严格的质量控制下, 应成为一种常规检测方法。

参考文献

[1] Januzzi JL, Camargo CA, Anwaruddin S, et al. The N-terminal Pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study[J]. Am J Cardiol, 2005, 95(8): 948-954.

[2] Hammerer-Lercher A, Neubauer E, Muller S, et al. Head-to-head

comparison of N-terminal pro-BNP, BNP and Nt-ANP in diagnosis left ventricular dysfunction[J]. Clim Acta, 2001, 310(2): 193-197.

[3] Mueller T, Gegenhuber A, Poelz W, et al. Diagnostic accuracy of B type natriuretic peptide and amino terminal proBNP in the emergency diagnosis of heart failure[J]. Heart, 2005, 91(5): 606-612.

[4] Januzzi JL, van Kimmenade R, Lainchbury J, et al. NT-proBNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure; an international pooled analysis of 1256 patients; the International Collaborative of NT-proBNP Study[J]. Eur Heart J, 2006, 27(3): 330-337.

[5] Kragelund C, Grønning B, Køber L, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease[J]. N Engl J Med, 2005, 352(7): 666-675.

[6] Rodseth RN. B type natriuretic peptide—a diagnostic breakthrough in peri-operative cardiac risk assessment[J]. Anaesthesia, 2009, 64(2): 165-178.

[7] 张丽, 张春玲, 丛祥凤, 等. N 末端 B 型钠尿肽原和大内皮素-1 对严重心力衰竭患者的预后作用及其与心血管病关系的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1237-1241.

(收稿日期: 2013-05-10)

• 检验技术与方法 •

超薄型琼脂糖凝胶板的制作及血清蛋白电泳方法的建立

王月婷, 陆桂琴, 苏照环, 于嘉屏[△]

(上海迪安医学检验所研发实验室, 上海 200433)

摘要:目的 制作超薄型琼脂糖凝胶板并建立血清蛋白电泳检测方法。方法 采用软玻璃及透明胶片自制胶板模具; 采用透明胶片刻制加样膜条; 恒压 65 V 电泳分离血清蛋白。结果 所配制的琼脂糖凝胶板厚度小于 0.8 mm; 一块板同时可分析 8 个样品; 各蛋白区带的批内 CV 值小于 16%, 批间 CV 值小于 27%; 120 名体检正常人血清的参考范围为: 清蛋白 53.1%~70.3%、 α_1 -球蛋白 0.9%~3.5%、 α_2 -球蛋白 3.5%~8.9%、 β -球蛋白 7.1%~14.3%和 γ -球蛋白 13.0%~25.4%。结论 自制的超薄型琼脂糖凝胶电泳板能清晰分离血清中 5 类蛋白质, 染色脱色时间短, 背景清楚, 性能指标稳定, 可用于血清蛋白的分离及检测。

关键词:血清蛋白电泳; 琼脂糖凝胶; 参考范围

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.16.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)16-2155-02

血清蛋白电泳是检测血清蛋白质类的常用方法, 其电泳图谱可了解患者血清蛋白质全貌, 用于初筛试验, 为疾病诊断提供较全面的信息^[1]。目前各医疗机构检验科应用的方法大多为国外的全自动电泳仪, 价格昂贵, 分析成本很高^[2]。醋酸纤维素薄膜电泳存在灵敏度差, 重复性不佳等缺点, 且图谱难以保存^[3]。本文报道了一种超薄型琼脂糖凝胶板的制作方法并用于血清蛋白电泳检测, 价格低廉, 操作简便, 适合在中小型医院检验科应用。

1 材料与方法

1.1 样品来源 收集各个年龄段体检正常的人血清样品, 当天检测。

1.2 仪器与试剂 DYY-6D 型电泳仪电源(北京市六一仪器厂); DYCP-38C 型电泳仪(北京市六一仪器厂); 培清 JS-680D 全自动凝胶成像分析仪(上海培清科技有限公司)。凝胶缓冲液: pH8.6 三羟甲基氨基甲烷缓冲液。称取三羟甲基氨基甲

烷 1.212 g, EDTA 0.29 g, NaCl 15.85 g, 调 pH 值至 8.6, 去离子水定容至 1 000 mL。电极缓冲液: pH8.6 巴比妥缓冲液, 离子强度为 0.075。称取巴比妥 2.76 g, 巴比妥钠 15.4 g, EDTA 0.29 g, 调 pH 值至 8.6, 去离子水定容至 1 000 mL。琼脂糖凝胶板: 0.65% 的琼脂糖凝胶。称取琼脂糖 0.65 g, 溶于 50 mL 的凝胶缓冲液, 去离子水定容至 100 mL。氨基黑 10B 染液: 称取氨基黑 10B 0.1 g, 溶于无水乙醇 20 mL 中, 加冰乙酸 5 mL, 甘油 0.5 mL 使其溶解。再称取碘基水杨酸 2.5 g, 溶于少量去离子水中, 加入前液。最后去离子水定容至 100 mL。脱色液: 甲醇 45 mL, 冰乙酸 5 mL, 去离子水定容至 100 mL。

1.4 方法

1.4.1 模具及胶板的制作 取一块长 20 cm、宽 15 cm、厚 0.8 mm 的台面软玻璃, 将中央长 9.5 cm、宽 6.5 cm 的面积裁空, 下衬 10 cm×7 cm 的透明胶片, 胶片需紧贴挖空部分的边缘, 不能漏胶。将沸水浴融化后的琼脂糖凝胶冷却至 60 ℃ 左右,

[△] 通讯作者, E-mail: yujp60@163.com。