

KHC3 法测定血清总胆红素的方法学评价

杨晓东, 卢建明

(三峡大学仁和医院检验科, 湖北宜昌 443001)

摘要:目的 应用美国临床和实验室标准化协会(CLSI)推荐的标准化评价方案对 KHC3 法测定血清总胆红素(TBIL)进行初步评价。方法 对 KHC3 法测定血清总胆红素的精密度、准确度、线性范围、干扰因素及正常血清参考范围进行测定,并比较其与改良 J-G 法结果的相关性。结果 KHC3 法测定 TBIL 具有良好的精密度(批内、批间、日间及总变异系数均小于 5%)和准确度(回收率 96.9%~103.7%, 平均回收率 100.7%);线性范围:0~513 $\mu\text{mol/L}$;维生素 C(VitC) $\leq 0.5 \text{ g/L}$ 、三酰甘油(TG) $\leq 5.01 \text{ mol/L}$ 和血红蛋白(Hb) $\leq 1.5 \text{ g/L}$ 时对 KHC3 法无干扰;KHC3 法与改良 J-G 法相关性良好;KHC3 法测定 TBIL 参考范围为:1.84~15.10 $\mu\text{mol/L}$ 。结论 KHC3 法测定 TBIL 具有准确度高、重复性好、线性范围宽、抗干扰能力强等特点,适用于实验室常规自动化分析。

关键词:方法学评价; 总胆红素; KHC3 法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)19-2582-02

血清总胆红素(TBIL)测定是对肝胆系统疾病进行诊断和鉴别诊断的重要指标,其升高和降低对病程观察有重要意义^[1]。现国内多采用改良 J-G 法、钒酸盐法和氧化酶法对 TBIL 进行测定,其中改良 J-G 法是全国医学检验学会推荐的常规测定方法,但该方法易受到脂血和溶血影响且试剂无法长期稳定。钒酸盐法易对环境造成潜在污染,甚至有报道可影响豆类作物生长^[2]。TBIL 氧化酶法特异性好,几乎不受脂血和溶血干扰,但价格昂贵,目前难以普及。近年来出现了蓝光红外(KHC3)法测定血清 TBIL,该方法在 660~750 nm 的红外区域比色,能最大限度消除脂血和溶血对测定的影响。本文采用美国临床和实验室标准化协会(CLSI)评价方案对目前市场上出售的 KHC3 法测定 TBIL 试剂盒进行评价。

1 材料与与方法

1.1 试剂 KHC3 法 TBIL 测定试剂盒来自湖南永和阳光公司,改良 J-G 法试剂盒由上海申能-德赛诊断技术有限公司生产。TBIL 校准品:C. F. A. S 由 Roche 公司生产,其含量为 86.5 $\mu\text{mol/L}$;10%脂肪乳注射液由广州侨光制药有限公司生产;250 g/L 的维生素 C(VitC)注射液由商丘市哈森有限公司生产;血红蛋白(Hb)液:自配,最后用 ABX Pentra DF120 血球计数仪测定其浓度并调整为 60 g/L。

1.2 仪器及主要参数 雅培 ARCHITECT C8000 全自动生化分析仪用于 TBIL 测定。KHC3 法测定参数:单试剂终点法,主波长 700 nm,次波长 800 nm。反应温度 37 $^{\circ}\text{C}$ 。标本量 20 μL ,试剂量 200 μL 。

1.3 标本来源 收集本院临床血清标本,按照 TBIL 低、高 2 个水平制成混合血清,分装后于 -20 $^{\circ}\text{C}$,避光储存,用于不精密测定;选择 TBIL 高值样本用于线性分析。318 例健康对照组来自本院健康体检人员,年龄 18~72 岁,平均年龄 43.7 岁;男性 179 名,女性 139 名,用于参考范围确定。

1.4 方法

1.4.1 KHC3 法测定 TBIL 的不精密试验 参照 CLSI 颁布的 EP5-A2 文件方案进行操作。收集低高值 2 水平 TBIL 混合血清。连续测定 20 d,每天测定两批,批间间隔的时间不少于 2 h,每批对样品做双份测定,取均值,计算批内、批间、日间

及总不精密度(CV%)。

1.4.2 KHC3 法测定 TBIL 的回收试验 取低浓度血清样本 0.9 mL 加入 0.1 mL 生理盐水混匀后其 TBIL 浓度为 18.4 $\mu\text{mol/L}$ 作为基线样本。取低浓度血清样本 0.9 mL 分别加入浓度为 86.5 $\mu\text{mol/L}$ 、43.25 $\mu\text{mol/L}$ 、21.63 $\mu\text{mol/L}$ 的 TBIL 校准品 0.1 mL 混匀后作为回收样本。每份回收样本测定两次取均值计算回收率。

1.4.3 KHC3 法测定 TBIL 的线性分析 参照 CLSI 颁布的 EP6-A 文件方案进行操作。取 TBIL 为 14.09 $\mu\text{mol/L}$ 和 513 $\mu\text{mol/L}$ 的混合血清分别作 1 号和 5 号管,将两者分别按 3:1、2:2、1:3 比例混合作为 2、3、4 号管,共 5 个不同水平的标本,各浓度重复测定 4 次,计算均值作线性分析。

1.4.4 KHC3 法测定 TBIL 的干扰试验 参考 CLSI EP7-A2 文件方案进行操作:将 1 份含 TBIL 12.69 $\mu\text{mol/L}$ 混合血清分成 2 份,分别作 1 号和 5 号管。1 号管加入 1/10 体积的生理盐水,5 号管按同样比例加入干扰物(干扰物的浓度, Hb:60 g/L, TG:200.55 mmol/L, VitC:20 g/L),然后 1 号管和 5 号管分别按 3:1、2:2、1:3 混合作为 2、3、4 管,用 KHC3 法和改良 J-G 法测定各管的 TBIL,每管重复测定 4 次。其中第一管重复测定 20 次,并计算其均值与标准差,以 1.96 s 作为有否干扰的标准。

1.4.5 方法比较 随机选择 40 份血清标本,每个标本用 KHC3 法(Y)和改良 J-G 法(X)分别作双份测定,每天测定 8 个标本,最后进行比较。

1.4.6 参考范围设置 参照 CLSI C28-A2 评价方案。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件和 Microsoft Excel 2003 软件进行数据处理。

2 结果

2.1 精密度的结果 CV 的合格标准根据卫生部临检中心室间质量评估允许 TBIL 误差(20%)的 1/4 计算,因此 $CV < 5.0\%$ 。KHC3 法测定 TBIL 批内、批间、日间及总变异系数均小于 5%,有良好的重复性,见表 1。

2.2 回收试验结果 KHC3 法测定 TBIL 平均回收率为 100.7%(96.9%~103.7%),见表 2。

表 1 KHC3 法测定 TBIL 精密度 (n=20)

样本	均值 ($\mu\text{mol/L}$)	CV%			
		批内	批间	日间	总
低值水平	16.14	2.40	2.71	3.71	4.5
高值水平	84.43	0.90	1.03	3.13	3.45

表 2 KHC3 法测定 TBIL 回收试验结果 ($\mu\text{mol/L}$)

回收样本 测定均值	加入浓度	回收浓度	回收率(%)	平均回收率 (%)
18.40	—	—	—	100.7%
26.78	8.65	8.38	96.9	
22.79	4.33	4.39	101.4	
20.64	2.16	2.24	103.7	

—: 此项无数据。

2.3 线性分析结果 本法线性回归方程为: $Y=1.1724+0.9976X$, $r=0.999$, 根据线性分析结果说明 TBIL 浓度在 $0\sim 513\ \mu\text{mol/L}$ 线性良好, 偏倚较小。

2.4 干扰试验结果 VitC、Hb 和 TG 的终浓度分别为 $0.5\ \text{g/L}$ 、 $1.5\ \text{g/L}$ 和 $5.01\ \text{mmol/L}$ 时, 干扰值均在对照组 $1.96\ \text{s}$ (95% 可信限) 范围内, 对 TBIL 的测定基本无干扰, 见表 3。

表 3 KHC3 法测定 TBIL 干扰试验结果

参数	VitC(g/L)	Hb(g/L)	TG(mmol/L)
终浓度	0.5	1.5	5.01
TBIL($\mu\text{mol/L}$)	12.53	10.86	11.19
干扰值	1.06	-1.26	0.78
1.96S	1.39	1.32	1.49

2.5 相关试验结果 KHC3 法和改良 J-G 法测定结果的回归方程为: $Y=1.286X-11.797$ (Y 为 KHC3 法、X 为改良 J-G 法), $r=0.998$, 大于 NCCLS 规定的界定值 0.975 , 说明相关良好。

2.6 健康人群血清 TBIL 参考范围 经统计学处理, 男女两
• 检验技术与方法 •

组血清 TBIL 结果差异无统计学意义 ($P>0.05$)。统计分析后得出 TBIL 的参考范围为 $1.84\sim 15.10\ \mu\text{mol/L}$ 。

3 讨论

KHC3 法测定 TBIL 反应中显示出的独特蓝色要在红外线的区域 ($660\sim 750\ \text{nm}$) 才有最大的吸收峰, 而大部分常见干扰物的最大吸收峰都在 $340\sim 600\ \text{nm}$ 以内, 仅从理论上讲, 它就可以消除传统方法所带来的干扰, 特别是脂血和溶血及一些药物产生的色素干扰, 使检验结果更准确可靠。

本文参照 CLSI 评价方案对目前市场上出售的 KHC3 法测定 TBIL 试剂盒进行精密度、线性范围、干扰及回收试验评估均取得良好的成绩。结果显示此法具有较好的精密度和准确度, 检测线性范围为 $0\sim 513\ \mu\text{mol/L}$, 在该线性范围内与改良 J-G 法比较, 相关良好。该方法具有较高的抗干扰能力。KHC3 法测定 TBIL 的参考范围为 $1.84\sim 15.10\ \mu\text{mol/L}$, 比改良 J-G 法测定 TBIL 参考范围低^[3], 建议各实验室应建立各自的参考范围。

KHC3 法测定 TBIL 方法简单, 试剂为液体单试剂, 无需临时配制, 稳定期长, 可在室温下保存, 试剂、标本用量少, 不占试剂位, 该法易于自动化, 试剂精密度、线性范围、准确性、抗干扰能力均能满足日常检验工作的需要, 是实验室常规测定血清 TBIL 又一较好的方法, 值得推广。

参考文献

- [1] 郭小刚, 王建国, 贺德栋. 原发性肝癌术后胆红素水平的变化及影响因素分析[J]. 中国现代医生, 2009, 47(24): 3-4, 15.
- [2] 顾国宝. 化学氧化法测定血清直接胆红素试剂的研制[J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15(4): 244-245.
- [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: 453.

(收稿日期: 2013-05-17)

MLCT 和 ELISA 法检测 HLA-B27 的比较

田卫花^{1,2}, 李芳娟², 梁勤², 邢福军^{1,2}, 文建强^{3△}

(1. 甘肃省中医药研究院, 甘肃兰州 730050; 2. 甘肃省中医院, 甘肃兰州 730050; 3. 甘肃省健康教育所, 甘肃兰州 730020)

摘要: 目的 比较微量淋巴细胞毒试验 (MLCT) 和酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测 HLA-B27 结果差异性。**方法** 采用 MLCT 法和 ELISA 法同步检测 483 例患者的 HLA-B27 的表达。**结果** 两种方法经配对 χ^2 检验 ($\chi^2=80.378, P<0.01$)。Kappa 值评价 ($K=0.308$), 显示两种方法一致程度不够满意。MLCT 法敏感度, 阳性预测价值和阴性预测价值分别为 $0.8011, 0.9803, 0.8882$, 均优于 ELISA 法。**结论** 两种方法检测 HLA-B27 存在差异, ELISA 法的敏感度较低, MLCT 法的敏感度、阳性预测价值和阴性预测价值均优于 ELISA 法。

关键词: 强直性脊柱炎; HLA-B27; 微量淋巴细胞毒试验; 酶联免疫吸附试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.040

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)19-2583-03

HLA-B27 是一种主要组织相容性复合体 I 类蛋白, 属

HLA-I 类分子, 存在于所有有核细胞和血小板表面, 其生理

△ 通讯作者, E-mail: jianqiangwen@yahoo.com.