

表 1 KHC3 法测定 TBIL 精密度($n=20$)					
样本	均值	CV%			
	($\mu\text{mol/L}$)	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: $Y=1.172\ 4+0.997\ 6X$, $r=0.999$,根据线性分析结果说明 TBIL 浓度在 0~513 $\mu\text{mol/L}$ 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 g/L、1.5 g/L 和 5.01 mmol/L 时,干扰值均在对照组 1.96 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 1.84~15.10 $\mu\text{mol/L}$ 。

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(660~750 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 340~600 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 0~513 $\mu\text{mol/L}$,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 1.84~15.10 $\mu\text{mol/L}$,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 0.801 1,0.980 3,0.888 2,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。

功能是将多肽呈递给 CD8⁺ T 细胞。人类白细胞抗原(HLA)是机体内具有高度多态性的抗原系统,HLA-B27 是 HLA-B 位点上的一个重要等位基因,它与许多疾病呈强相关^[1],尤其是强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis,AS)^[2-4],是一种多发于青壮年男性,并以中轴关节慢性炎症为主的原因不明的自身免疫性疾病,临床表现以腰部疼痛、僵直不适为最常见症状^[5]。检测 HLA-B27 有助于 AS 的早期诊断及鉴别诊断。所以,作者对 483 例疑似 AS 患者同时应用微量淋巴细胞毒试验(MLCT)和酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HLA-B27,并进行比较,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 483 例临床标本来自于甘肃省中医院 2008 年 7 月至 2010 年 1 月,腰背酸痛或关节疼痛症状门诊及住院患者,经 X 线摄片、CT 或核磁共振及临床常规检查,根据 1966 年的纽约标准和 1984 年的修订的纽约分类标准^[5],诊断为 AS 患者 186 例,非 AS 患者 297 例,所有病例均采用肝素抗凝,试验前将全血标本分为两份,一份为加生理盐水或 D-Hanks 液对倍稀释,用 MLCT 检测(6 h 内检测完毕),另一份立即分离血浆,同时用 ELISA 方法检测。

1.2 仪器与试剂 芬兰雷勃 MK2 洗板机,雷杜 RT-6100 酶标分析仪,Olympus 倒置显微镜,HLA-B27 血清盘和补体(中日友好医院),淋巴细胞分离液(天津灏阳),ELISA 检测试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 MLCT 方法 新鲜抗凝全血标本用生理盐水(NS)或 D-Hanks 液对倍稀释,混匀,缓慢加于淋巴细胞分离液试管平面上,离心 1 800 r/min,20 min。吸取淋巴细胞层,用 NS(或 D-Hanks 液)洗涤两次,去血小板。调细胞数至 2×10⁶/mL,将 1 μL 淋巴细胞加在 HLA 血清板上,室温温育 30 min,加 5 μL ABC 补体于 HLA 血清板上,室温温育 60 min,加 2 μL 5%伊红染色 5 min,加 5 μL 甲醛溶液固定,置室温 2 h 后读结果。判读结果:用倒置显微镜观察结果,被伊红染色的暗红色、扁平、稍大的细胞为死细胞,未染色的透亮细胞为活细胞。死细胞大于 40%判为 HLA-B27 阳性。

1.3.2 ELISA 方法 设置阴性、阳性和空白对照,分离所得血浆,按 ELISA 试剂盒说明书操作,酶标仪检测,根据 OD 值判读结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.5 软件进行统计学分析,计数资料采用配对 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。计算公式:敏感度=检测阳性÷真阳性;特异性=检测阴性÷真阴性;阳性预测价值=检测的真阳÷所有检测阳性;阴性预测价值=检测的真阴÷所有检测阴性^[6-7]。

2 结果

2.1 两种检验方法检测结果的比较 MLCT 和 ELISA 法对 483 例临床标本检测结果比较,差异有统计学意义($\chi^2=80.378,P<0.01$)。经 Kappa 值评价,显示一致程度不够满意($K=0.308,P<0.01$),见表 1。

2.2 两种检验方法的检测结果与临床确诊数对比分析 见表 2。

2.3 两种检测方法的敏感度、特异性、阳性预测值和阴性预测价值 MLCT 法敏感度达 0.801 1,明显高于 ELISA 法的 0.193 5;两种方法的特异性相近,分别为 0.989 9 和 0.979 8;

MLCT 法的阳性预测价值和阴性预测价值分别为 0.980 3,0.888 2,均优于 ELISA 法。见表 3。

表 1 MLCT 和 ELISA 法对 483 例临床标本的检测结果(n)

MLCT 法	ELISA 法		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	39	113	152
阴性(-)	3	328	331
合计	42	441	483

表 2 MLCT 和 ELISA 法检测结果与临床确诊数的情况(n)

临床确诊	MLCT 法		ELISA 法	
	阳性(+)	阴性(-)	阳性(+)	阴性(-)
阳性(+)	149	37	36	150
阴性(-)	3	294	6	291

表 3 MLCT 和 ELISA 法检测 HLA-B27 的敏感度、特异性和预测价值

检测方法	敏感度	特异性	阳性预测价值	阴性预测价值
MLCT 法	0.801 1	0.989 9	0.980 3	0.888 2
ELISA 法	0.193 5	0.979 8	0.857 1	0.659 9

3 讨论

AS 是一种慢性、进行性和炎性疾病,主要累及骶髋关节、脊柱骨软组织及四肢关节,典型病例 X 线表现为骶髋关节明显破坏,后期脊柱呈“竹节样”改变,并可累及内脏和其他组织,严重者可失去劳动能力^[5,8]。自国内外发现和证实 HLA-B27 与 AS 有强相关后^[1-2,9-11],检测 HLA-B27 抗原已成为临床中关节炎和腰腿痛鉴别诊断的一个很重要的指标,通常可为临床诊断提供线索。检测 HLA-B27 是早期诊断部分不典型、未分化脊柱关节病的主要手段,阳性则高度提示为脊柱关节病范畴内的疾病。对于幼年关节炎患者,往往没有典型的腰背疼痛,仅有 1 个或很少几个关节肿胀和疼痛,此时 HLA-B27 的检测尤为重要。对于急性葡萄膜炎、虹膜炎患者,HLA-B27 阳性提示并发强脊炎。所以 HLA-B27 虽然只是作为一项辅助检查,但是对 AS 的诊断具有其独特的优势^[7]。

目前,检测 HLA-B27 的方法主要有 MLCT、ELISA、序列特异引物聚合酶链反应(PCR-SSP)和流式细胞仪(FCM)法等,其中 SSP-PCR 和 FCM 法需要使用特殊、昂贵的仪器,检测成本较高,不适用于所有医院,特别是条件较差的偏远地区和基层医院。相比之下,MLCT 和 ELISA 法不需要特殊的仪器,成本较低,易于掌握,更具有实用性,所以这两种方法被临床普遍推广使用。本文资料表明,MLCT 和 ELISA 法检测 HLA-B27,差异有统计学意义($\chi^2=80.378,P<0.01$);经 Kappa 值评价,显示一致程度不够满意($K=0.308,P<0.01$),并且 MLCT 法敏感度,阳性和阴性预测价值均优于 ELISA 法。两种方法的特异性相近。

综上所述,在 HLA-B27 的检测中,应优先选择 MLCT 法。但实验时由于 MLCT 法操作环节较多,结果判读时存在主观性,所以要求检验人员应谨慎操作,减少弱阳性与假阴性的可能。建议临床医师也应高度重视临床症状明显、脊柱摄片有较为典型的 AS 改变以及 HLA-B27 检测呈弱阳性与阴性的患者,以免延误诊治。

参考文献

- [1] Lai E, Teodoro T, Volchuk A. Endoplasmic reticulum stress; signaling the unfolded protein response[J]. Physiology, 2007, 22(7): 193-201.
- [2] 朱振军, 程田, 李碧波, 等. 人类白细胞抗原-B27 与强直性脊柱炎的相关性分析[J]. 中国实用医刊, 2010, 37(17): 10-11.
- [3] 孙芳. 人类白细胞抗原-B27 检测在临床诊断强直性脊柱炎中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1301-1302.
- [4] 祁军, 古洁芳. HLA-B27 在强直性脊柱炎发病机制中的作用研究进展[J]. 新医学, 2011, 42(3): 203-207.
- [5] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [6] 朱美玲, 罗伟琼, 邹翠贤, 等. HLA-B27 3 种检测方法的比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(7): 1251-1252.
- [7] 胡晓舟, 苑腾, 王小林, 等. 流式细胞术与定量 PCR 法检测 HLA-B27 的对比[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(6): 745-746.
- [8] Carter KW, Pluzhnikov A, Timms AE, et al. Combined analysis of three whole genome linkage scans for Ankylosing Spondylitis[J]. Rheumatology, 2007, 46(5): 763-771.
- [9] 方懿, 蒋宗滨. HLA-B27 与强直性脊柱炎的相关性研究进展 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2011, 32(3): 323-326.
- [10] 孙翠华, 孟凡杰, 王玉芳, 等. 强直性脊柱炎与 HLA-B27 相关性的研究进展[J]. 医学综述, 2007, 13(4): 281-283.
- [11] 李全焕, 刁凤珠, 刘红丽. 人类白细胞抗原 B27 的检测及临床应用 [J]. 江西医学检验, 2007, 25(1): 68, 80.

(收稿日期: 2013-03-13)

• 检验技术与方法 •

不同标本类型不同仪器检测血钾、血钠可比性分析及其测定值互换探讨

汪小葛¹, 陈巧佩^{2△}

(1. 江苏省昆山市第一人民医院检验科, 江苏昆山 215300; 2. 广西壮族自治区妇幼保健院/广西妇产院检验科, 广西南宁 530003)

摘要:目的 探讨不同标本类型不同仪器检测血钾(K^+)、血钠(Na^+)结果是否具有可比性及其换算的可能性。方法 使用 GEM Premier 3000 血气分析仪分别检测 40 份由低值到高值的动脉全血和静脉血清 K^+ 、 Na^+ 浓度, 使用 Roche Modolar DPP 全自动生化分析仪检测对应的静脉血清标本 K^+ 、 Na^+ 浓度, 分别得到 3 组 K^+ 、 Na^+ 浓度, 使用配对 t 检验比较各组数据有无差异, A 组(血气分析仪检测全血标本与生化仪检测血清标本)、B 组(血气分析仪检测血清标本与生化仪检测血清标本)、C 组(血气分析仪检测血清标本与血气分析仪检测全血标本)。对 A 组作直线回归分析得到两组数据的直线方程, 并运用于数值换算中, 20 份随机标本用来判断该推算值和生化仪实际检测对应血清标本 K^+ 、 Na^+ 浓度可比性及其互换的可能性。**结果** A 组、B 组、C 组检测 K^+ 、 Na^+ 浓度比较差异有统计学意义($P < 0.01$), A 组直线回归分析显示相关性良好, 通过直线回归方程计算出相应的换算值与生化仪实际测定相应血清标本之间 K^+ 、 Na^+ 浓度差异无统计学意义($P > 0.05$), 且实际测定值和理论值间配对差值的标准差分别为 0.063、0.677, 表明两种方法的测定值的互换是可行的。**结论** 不同的标本类型不同的仪器对 K^+ 、 Na^+ 的检测结果有影响, 各个实验室可通过建立两者间数据的换算公式对结果进行调整, 使同一检测项目在不同仪器上得出的具有差异的检测结果经过换算统一到同一水平, 从而为临床疾病诊断和疗效观察提供可靠数据。

关键词: 全血标本; 血清标本; 血钾; 血钠

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 19. 041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)19-2585-03

在临床上一般都是使用全自动生化分析仪来检测患者 K^+ 、 Na^+ 浓度, 但是由于生化分析仪检测标本需要对本标本进行处理, 分离血清, 这样从采集标本到检测结果出来需要一定的时间, 对于危重患者而言, 希望更快的得到检测结果, 这样的情况下, 一般可以用血气分析仪检测全血标本代替生化仪检测, 由于仪器不同, 标本类型也不同, 这样就可能导致两种方法检测结果的不一致, 这样也给临床医生诊断病情带来困扰。本研究对不同标本类型不同仪器检测 K^+ 、 Na^+ 结果之间进行比较分析, 判断血气分析仪能否代替生化分析仪快速准确的检测 K^+ 、 Na^+ 浓度。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 GEM Premier 3000 血气分析仪及原装试剂、校准品及质控品。Roche Modolar DPP 全自动生化分析仪, Roche 原装试剂, C. f. a. s 校准品, RANDOX 质控品, 罗氏 Modolar DPP 全自动生化分析仪室内质控在控, 参加江苏省室内质控评比成绩优秀。

1.2 方法 采集当日住院患者动脉肝素锂抗凝全血及静脉血, 标本采集操作按照《全国临床检验操作规程》第 3 版进

行^[1], 标本无黄疸、脂血、溶血, 动脉全血与静脉血同时采集, 静脉血离心分离血清, 其中 40 份标本按照 EP9-A 文件中的浓度分布要求择需采集^[2], 全部标本都在 1 h 内测定完成, 分别使用血气分析仪检测全血标本以及血清标本 K^+ 、 Na^+ 浓度, 使用生化分析仪检测血清标本 K^+ 、 Na^+ 浓度。即: 使用 GEM Premier 3000 血气分析仪分别检测 40 份由低值到高值的动脉全血和静脉血清 K^+ 、 Na^+ 浓度, 使用 Roche Modolar DPP 全自动生化分析仪检测对应的静脉血清标本 K^+ 、 Na^+ 浓度, 分别得到 3 组 K^+ 、 Na^+ 浓度, 使用配对 t 检验比较各组数据有无差异, A 组(血气分析仪检测全血标本与生化仪检测血清标本)、B 组(血气分析仪检测血清标本与生化仪检测血清标本)、C 组(血气分析仪检测血清标本与血气分析仪检测全血标本)。对 A 组作直线回归分析得到两组数据的直线方程, 并运用于数值换算中, 使用血气分析仪和生化仪分别测定 20 份随机标本动脉全血和静脉血清 K^+ 、 Na^+ 浓度, 根据 A 组数据得出的直线回归方程调整血气分析仪测定的结果, 即得出该全血标本相应血清在生化仪器上检测的推算值, 判断该推算值和生化仪实际检测对应血清标本 K^+ 、 Na^+ 浓度可比性及其互换的可能性。

△ 通讯作者, E-mail: chenqiaopei@hotmail.com.