

乳胶增强透射免疫比浊法检测胱抑素 C 的方法学评价

刘玉昌, 赵 绩

(1. 上海市闵行区龙柏社区卫生服务中心, 上海 201105; 2. 上海瑞金医院集团闵行医院, 上海 201100)

摘要:目的 对乳胶增强免疫比浊法测定血清胱抑素 C 进行方法学评价, 验证其临床实用性。方法 依据美国临床实验室标准化委员会文件要求对血清胱抑素 C 乳胶增强免疫比浊法进行精密密度、线性范围、灵敏度和抗干扰性分析。结果 乳胶增强免疫比浊法测定血清胱抑素 C 的批间变异系数小于 3%, 检测线性范围为 0.42~7.54 mg/L, 最低检测限为 0.034 mg/L, 而且血清中血红蛋白(10 g/L)、胆红素(600 mg/L)、脂肪乳剂(10 g/L)、三酰甘油(15 g/L)和类风湿因子(1 200 IU/mL)因子对检测结果无明显干扰作用。结论 乳胶增强透射免疫比浊法能定量检测人血清中的胱抑素 C, 符合临床实验室常规检测的需要, 为临床评价肾功能提供了一项简便、可靠、实用的手段。

关键词:胱抑素 C; 乳胶增强免疫透射比浊法; 精密密度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.065

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2014)15-2106-02

胱抑素 C 是一种相对分子质量为 13×10^3 的非糖基化蛋白质, 属于半胱氨酸蛋白酶抑制剂超家族^[1-2]。该蛋白在全身大部分组织中稳定地表达, 血清浓度比较恒定, 不受年龄、炎症、恶性肿瘤等因素的影响^[3]。由于胱抑素 C 分子量小, 可自由通过肾小球基底膜, 并在近曲小管被重吸收, 然后降解, 无肾小管分泌。因此, 胱抑素 C 是反映肾小球滤过率(GFR)的良好内源性标志物之一^[4]。目前, 胱抑素 C 检测方法主要有酶联免疫吸附法、放射免疫分析法、免疫透射比浊法和免疫散射比浊法, 其中免疫透射比浊法因其操作简单、分析快速、易于自动化等优点开始被临床实验室所关注^[5-6]。为了满足临床胱抑素 C 检测的要求, 本文使用 OLYMPUS-AU680 全自动生化分析仪, 对免疫透射比浊法检测胱抑素 C 的性能进行了评估, 现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 胱抑素 C 检测试剂盒、定标液、质控品; 仪器为 OLYMPUS-AU680 全自动生化分析仪。

1.2 检测方法 检测原理 检测原理为微粒子增强免疫透射比浊法, 即包被了胱抑素 C 抗体的微粒子与样本中的胱抑素 C 发生反应, 形成免疫复合物, 当光线通过反应体系时, 由于免疫复合物对光线的反射和吸收, 引起透射光减少。通过全自动生化分析仪定量测定透射光强度的变化, 计算出溶液中胱抑素 C 的浓度。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.0 对数据进行统计学分析, 统计学方法为 *t* 检验、直线相关与回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密密度 根据 NCCLS 文件 EP5-A 进行精密度的测定, 低值、高值质控品各一份, 低值、中值、高值冰冻血清各 1 份, 每天测定 2 次(上午、下午各 1 次), 每次测定均做双份, 共测定 20 d。5 份样本检测结果的变异系数(CV)分别为 2.6%、2.1%、2.0%、2.0%和 2.3%, 见表 1。

表 1 胱抑素 C 检测的精密密度分析

项目	检测次数(n)	均值(mg/L)	s	CV(%)
低值质控品	80	0.96	0.025	2.6
高值质控品	80	3.95	0.084	2.1
低值血清样本	80	0.45	0.034	2.0
中值血清样本	80	1.71	0.034	2.0
高值血清样本	80	5.37	0.126	2.3

2.2 胱抑素 C 检测的线性分析 以 7.54 mg/L 高值血清为

H 标本, 0.42 mg/L 低值血清为 L 标本, 按 5/5L+0/5H、4/5L+1/5H、3/5L+2/5H、2/5L+3/5H、1/5L+4/5H、0/5L+5/5H 的比例形成梯度样本, 每个样本检测 3 次, 取平均值, 以预期值作为 X 轴, 实测值为 Y 轴进行直线回归分析。线性回归方程为 $Y = 0.998X + 0.012$, $r = 0.999$, 显示在 0.42~7.54 mg/L 浓度范围内线性良好, 见图 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2.3 检测下限 低值质控品用 0.9% NaCl 连续稀释, 每份样本检测 3 次, 取平均值。以 0.9% NaCl 为试剂空白, 以高于试剂空白 3s 的吸光度对应的最低胱抑素 C 浓度作为检测下限, 胱抑素 C 检测下限为 0.034 mg/L。

2.4 干扰性 在高值和低值混合血清中加入一定量的血红蛋白、胆红素、脂肪乳剂、RF 因子和三酰甘油, 然后测定胱抑素 C 浓度, 验证各干扰物的干扰性。测定值偏离原浓度的 10% 被认为有干扰性。血红蛋白、胆红素、脂肪乳剂、RF 因子和三酰甘油分别在以下浓度时未见干扰现象: 10 g/L、600 mg/L、10 g/L、1 200 IU/mL、15 g/L。

2.5 定标和上机的稳定性 在首次定标后, 用 4 份患者样本, 每周检测 1 次(每次重复 3 次, 取平均值), 验证定标和上机的稳定性。结果显示样本至少可稳定 12 周。

2.6 抗凝剂的影响 为了验证抗凝剂对胱抑素 C 检测结果的影响, 选取 40 名自愿者, 20 名自愿者分别采集 EDTA 抗凝血和非抗凝血各 3 mL, 20 名自愿者分别采集肝素抗凝血和非抗凝血各 3 mL, 分别检测胱抑素 C, 然后比较抗凝血与非抗凝血检测结果的不同。结果显示, 使用血浆与血清检测胱抑素 C 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.7 仪器间的比较 收集 40 份新鲜标本, 其中低浓度标本 12 份(30%)、中浓度标本 16 份(40%)、高浓度标本 12 份(30%), 随机排序编号, 用 OLYMPUS AU680(Y) 和 Hitachi 7600(X) 同时进行测定, 结果显示两仪器之间胱抑素 C 检测结果比较差异无统计学意义($t = 1.174$, $P = 0.256$), 并具有良好的相关性: $Y = 0.9839X + 0.00002$, $r = 0.9982$, 见图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

3 讨 论

胱抑素 C 常用测定方法有酶联免疫吸附法、放射免疫分析法和透射免疫比浊法, 其中酶联免疫吸附法和放射免疫分析法因操作复杂、费时, 检测线性范围窄, 灵敏度低, 限制了其临床普遍应用^[4-5]。而微粒子增强透射免疫比浊法可以在全自动生化分析仪上操作, 具有快速、便捷、稳定等优势。本研究通过对高、中、低值血清样本和质控品分别连续检测胱抑素 C, 结果发

现该检测试剂具有良好的精密性(CV均小于3%),完全能满足临床检测的要求;而且在0.42~7.54 mg/L浓度范围内具有良好的线性关系,实测值与预期值的偏差均小于5%,检测下线达到0.032 mg/L,显示出高度的敏感性。干扰性试验显示血红蛋白小于10 g/L,胆红素小于600 mg/L,脂肪乳剂小于10 g/L,RF因子小于1 200 IU/mL,三酰甘油小于15 g/L时,对该试剂的检测结果显示无明显的干扰作用,与文献[7]报道相似。为了验证不同抗凝剂对检测结果的干扰,本研究分别用EDTA抗凝血浆、肝素抗凝血浆和血清标本进行了比对,结果显示该两种抗凝剂对胱抑素C检测结果均无显著影响。另外,通过在OLYMPUS AU680和Hitachi 7600分别检测胱抑素C,发现两种设备的检测结果具有良好的相关性($r=0.9983$),说明该胱抑素C试剂适合不同的设备检测,适合临床检验的应用。

综上所述,微粒子增强透射免疫比浊法能定量检测人血清或血浆中的胱抑素C,符合临床实验室常规检测的需要,为临床评价肾功能提供了一项简便、可靠、实用的检测手段。

参考文献

[1] 俸家富,罗军,李少林. 胱抑素C-肾小球滤过率肌酐替代标记物
• 经验交流 •

[J]. 国外医学:临床生物化学分册,2005,26(3):168-172.
[2] Voskoboev NV, Larson TS, Rule AD, et al. Analytic and clinical validation of a standardized cystatin C particle enhanced turbidimetric assay(PETIA) to estimate glomerular filtration rate[J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(9):1591-1596.
[3] 李清华. 测定肾小球滤过率的灵敏指标-胱蛋白酶抑制剂C[J]. 检验医学, 2004, 19(1):32-34.
[4] 李昕, 韩鸿玲, 贾海员, 等. 应用颗粒增强透射免疫比浊法测定血清胱抑素C的探讨[J]. 天津医科大学学报, 2008, 14(2):195-196.
[5] 于德军, 蒙凯. 乳胶增强免疫比浊法测定血清胱抑素C[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(10):1159-1160.
[6] Hossain MA1, Emar M, El Moselhi H, et al. Comparing measures of cystatin C in human sera by three methods[J]. Am J Nephrol, 2009, 29(5):381-391.
[7] 齐志宏, 邸茜, 赵芳, 等. 乳胶增强免疫比浊法测定血清胱抑素C方法学评价及临床意义[J]. 北京医学, 2010, 32(2):127-130.

(收稿日期:2014-04-10)

3种方法在孕妇HCMV-IgG、IgM抗体检测中的临床评价

张勇¹, 孙丽婷², 冯乐¹, 豆媛媛¹

(1. 新疆乌鲁木齐市妇幼保健院检验科, 新疆乌鲁木齐 830001; 2. 新疆乌鲁木齐第四人民医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830002)

摘要:目的 探讨酶联免疫吸附试验(ELISA)、胶体金和化学发光3种检测方法在孕妇人巨细胞病毒(HCMV)感染中的临床应用评价。**方法** 采用上述3种检测方法同时检测11 664例不同孕周的孕妇血清(观察组)中HCMV特异性IgG、IgM抗体;并选择520例健康育龄妇女(孕前)为对照组,对检测结果进行比较。**结果** 观察组中ELISA法、胶体金法和化学发光法检出HCMV-IgG抗体阳性率分别为90.86%、46.53%和93.21%,ELISA法和化学发光法与胶体金法比较,差异有统计学意义($P<0.05$);HCMV-IgM抗体阳性率分别为0.36%、0.29%和2.05%,ELISA法和胶体金法与化学发光法比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 胶体金法特异性最高,但灵敏度偏低,化学发光法特异性和灵敏度均较高,可有效提高阳性检出率,对进一步开展优生优育,提高人口素质具有重大意义。

关键词:人巨细胞病毒; 胶体金法; 化学发光法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.066

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)15-2107-02

人巨细胞病毒(HCMV)是一种在人群中广泛存在的病毒,是目前公认的最常见的导致人类宫内感染的病毒,也是妊娠期病原体感染中研究较多且对胎儿危害性最大的一种病原体,孕妇感染HCMV后,可造成流产、早产、死胎、胎儿宫内发育迟缓、胎儿畸形等,还可通过母乳、唾液、尿液及阴道分泌物造成围产期感染。近年来对HCMV在孕妇中的感染及母婴传播状况的研究,越来越受到围产医学界的重视。HCMV特异性IgM抗体阳性判别较为复杂,可以是初次感染,也可以是再次感染,在临床判别时应予注意^[1]。本研究用酶联免疫法(ELISA)、胶体金法和化学发光法对11 664例孕妇HCMV-IgG、IgM特异性抗体进行检测,探讨上述3种检测方法在孕妇HCMV感染检测中的临床应用价值,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2012年10月至2013年12月来本院妇产科做孕期检查的不同孕周的孕妇11 664例为观察组,并进行HCMV-IgG、IgM特异性抗体检测,年龄19~36岁,平均为25.6岁。同时选择来本院体检的育龄妇女(孕前)520例做为

对照组,年龄18~24岁,平均为22.7岁。

1.2 标本的采集 用真空不抗凝管抽取育龄妇女(孕前)及孕妇肘静脉血2~3 mL,室温放置1 h后,2 500 r/min离心20 min,取血清进行检测。

1.3 方法

1.3.1 酶联免疫法(ELISA) 试剂盒由瑞典康乃格诊断公司提供。严格按照操作说明书进行,每次实验均设立空白对照、阳性对照、室内质控各一孔,阴性对照两孔,室内质控血清由康彻思坦生物技术有限公司提供,所有样本的检测由专人操作完成,HCMV-IgG、IgM检测结果由芬兰进口Labsystem Multiskan Ascent型酶标仪比色,在双波长450 nm和630 nm处读取各孔吸光度值(OD)。结果判断为临界值(CO)=阴性对照均值+0.250,样品OD值与CO值之比即:S/CO<1.0结果为阴性,S/CO=1.0~1.2结果为可疑,S/CO>1.2结果为阳性。

1.3.2 胶体金法 试剂由潍坊市康华生物技术有限公司提供。采用胶体金法,能快速检测患者血清中的HCMV-IgG、IgM特异性抗体。取80~100 μL血清垂直加入测试板加样孔