

• 经验交流 •

血清人绒毛膜促性腺激素检测前稀释方法探讨

杨斌, 汪洋

(湖北省谷城县人民医院检验科, 湖北襄阳 441700)

摘要: 目的 探讨人绒毛膜促性腺激素(HCG)临床血清检测前的稀释方法。方法 采用化学发光法检测 54 例正常妊娠和 15 例异位妊娠及滋养层疾病妇女的 HCG, 将每份血清进行倍比稀释后同时检测。结果 检测倍比稀释后血清 HCG 水平, HCG 浓度在 6 000~500 000 mIU/mL 之间可选择 64~2 048 倍稀释, 正常怀孕的孕妇可做 10~500 倍的稀释, 不同水平分布的血清可得到不同的适宜稀释比例区间。结论 可疑高值血清 HCG 检测前将标本进行适当比例的稀释, 即可得到 HCG 的真正水平。

关键词: 人绒毛膜促性腺激素; 化学发光; 稀释比例

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.064

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2015)02-0280-02

人绒毛膜促性腺激素(HCG)由胎盘合体滋养层细胞产生, 临幊上常用于早期妊娠、异位妊娠的诊断和胎盘功能的判断、治疗。目前临幊上多采用双抗体夹心法定量检测 HCG 的水平, 但使用双抗体夹心法的试剂盒存在不同程度的高剂量倒钩现象。临幊实验室多将超出线性范围的血清进行稀释后再重新检测, 且化学发光试剂成本普遍较高, 如出现倒钩现象, 不仅报告时间会受到影幊, 且造成了成本上的浪费, 如果稀释比例不合适, 也不能得到准确的结果^[1]。而 HCG 的准确定量检测对临幊诊断、治疗方案及治疗后的观察监测等具有重要的指导意义, 因此本研究结合本实验室的试验结果, 总结得出 HCG 临幊血清检测前的稀释方法, 供同行参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 3 月至 2014 年 3 月本院妇科门诊正常妊娠妇女 54 例, 停经 36 d 以上, 年龄 21~46 岁, 平均 29.3 岁。同期本院住院异位妊娠及滋养层疾病患者 15 例, B 超排除宫内孕, 年龄 18~51 岁, 平均 30.4 岁。

1.2 仪器与试剂 意大利索灵 Dia Sorin Liaison 化学发光免疫分析仪及测试软件; HCG 化学发光定量检测试剂盒为意大利索灵 Dia Sorin Liaison 原装进口试剂。

1.3 标本采集 取静脉血 3 mL, 分离血清, 置 -20 ℃ 保存待检, 2 h 内完成检测。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2003 软件对数据进行处理及统计学分析。

2 结 果

2.1 不同 HCG 水平分布适宜稀释倍数 将所有标本进行 1~2 048 倍的倍比稀释后, 同时进行检测, 选出其中有代表性的 6 组不同水平分布的血清 HCG 检测结果。不同高值 HCG 水平分布的血清, 均要将高值标本进行稀释后再进行检测, 才能得到一个准确的测得值, 而不同浓度区间高值标本的稀释倍数并不是统一的, 通过数据分析发现不同浓度区间的高值标本分别对应不同区间的稀释倍数, 过低或过高的稀释倍数, 均得不到准确的结果^[2]。根据试验数据, 不同 HCG 水平分布的标本, 其合适的稀释比例总结如表 1。

2.2 不同孕周 HCG 水平分布及稀释比例 妊娠不同时期以及各孕妇之间血清 HCG 绝对值变化大, 根据表 1 不同 HCG 水平分布的标本稀释结果, 不同孕周所对应的稀释比例, 见表 2。

表 1 不同 HCG 水平分布适宜稀释倍数

HCG 水平分布(mIU/mL)	适宜稀释倍数
6 000	4~64
10 000	16~128
50 000	32~512
120 000	64~1 024
300 000	128~2 048
500 000	256~2 048

表 2 不同孕周 HCG 水平分布及稀释比例

妊娠周数	HCG(mIU/mL)	适宜稀释比例范围
≥0~1	5~50	不稀释
1~2	50~500	不稀释
2~3	100~5 000	不稀释或稀释 10 倍
3~4	500~10 000	20 倍
4~5	1 000~50 000	10~50 倍
5~6	10 000~100 000	50~100 倍
6~8	15 000~200 000	100~500 倍
8~12	10 000~100 000	50~100 倍

3 讨 论

女性怀孕后伴有复杂的体内激素变化的过程, 其中最重要的变化是由于胎盘作为一种内分泌腺体可以分泌许多种独特的激素, 如促绒毛膜性腺激素等。故 HCG 的定量检测在临幊诊断早期妊娠、先兆流产、异位妊娠及某些滋养层细胞肿瘤等方面有重要的意义, 目前临幊上常采用化学发光免疫法做 HCG 定量检测, 该方法具有快速、简单和结果可靠等优点, 但该方法的试剂成本高, 检测的线性范围不宽, 根据所用试剂及仪器的差别, 检测上线一般在 1 000~5 000 mIU/mL^[3]。

表 1 显示 HCG 浓度范围为 6 000~500 000 mIU/mL 可选择 64~2 048 的稀释倍数, 结合表 2 的分析结果, 妊娠两周以下的患者 HCG 水平在 1 000 mIU/mL 以下, 妊娠周期在 3 d 至 2 周 HCG 的水平在 5~500 mIU/mL 范围内不用稀释, 直接测试就能得到准确的结果, 妊娠 3 周以上 HCG 水平超过了

1 000 mIU/mL 时, 就有可能超出了试剂检测的线性范围, 这时就要选择合适的稀释倍数, 稀释不足, 超过检测范围, 无法显示结果, 稀释过度仪器也不显示结果, 结合表 1 和表 2, 根据 HCG 浓度的高低和孕周的不同选择合适的稀释倍数, 对临床来说是一种比较实用快捷经济的方法。当发生异位妊娠时, 血清中 HCG 的水平约为正常怀孕妇女的 1/3~1/2 或者无差别, 则稀释方法与正常妊娠类似^[4]。

另外滋养层细胞肿瘤如葡萄胎、恶性葡萄胎、绒毛膜上皮癌等患者血清中 HCG 明显升高, 多大于 10 000 mIU/mL, 甚至可达每毫升十万至数百万国际单位。根据以上试验结果, 对于葡萄胎妊娠 12 周以前可进行 1:500 稀释, 妊娠 12 周以后 1:250 稀释, 而对于绒毛膜上皮癌进行 1:100~1:2 048 稀释。但由于此类患者在测定之前无法估计 HCG 的可能水平, 也可将标本进行相应比例的稀释后, 先用 HCG 试纸条进行初测的方法, 结果呈阳性, 再进行定量检测, 最多会用掉 2~3 个试纸条, 也很方便, 结果也更有保证^[5]。实验室使用此稀释方法用于临床实践几月来, 均得到了良好的结果。因此作者认为

• 经验交流 •

沉淀煮沸裂解法煮沸时间对乙型肝炎病毒 DNA 检测结果的影响

梅玉峰, 魏宝珍, 危艳顺

(湖北省鄂州市鄂钢医院检验科, 湖北鄂州 436000)

摘要: 目的 探讨沉淀煮沸裂解法中的煮沸时间对实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术检测乙型肝炎病毒 DNA 结果的影响, 规范试验操作。方法 采用沉淀煮沸裂解法提取乙型病毒性肝炎(以下简称乙型肝炎)DNA, 煮沸时间为 5、7、9、10、11、13、15 min, 实时荧光定量 PCR 技术检测乙型肝炎 DNA, 比较不同煮沸时间检测乙肝 DNA 的结果。结果 煮沸时间在(10±5)min 内检测乙肝 DNA 的结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 沉淀煮沸裂解法中的煮沸时间煮沸时间在一定范围内对乙型肝炎 DNA 检测结果无影响。

关键词: 沉淀煮沸裂解法; 煮沸时间; 实时荧光定量聚合酶链反应; 乙型肝炎 DNA

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.065

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2015)02-0281-02

乙型病毒性肝炎(以下简称乙型肝炎), 每年约有 100 万人死于乙型肝炎病毒(HBV)感染所致的肝衰竭、肝硬化和原发性肝细胞癌^[1]。国内现有的慢性 HBV 感染者约 9 300 万人, 是国内当前流行最为广泛、危害性最严重的一种传染病^[2]。实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术检测乙型肝炎 DNA 具有特异度强、快速、灵敏度高等优点, 故目前作为 HBV 增殖复制的主要检测方法^[3]。影响检测 HBV-DNA 的因素有很多, 除了实验室因素、标本因素外^[4], 标准操作程序(SOP)文件也非常重要, 而 SOP 文件核心内容来源于试剂或仪器说明书。在检测 HBV-DNA 过程中, 相关仪器和试剂说明书规定煮沸时间为(10±1)min。若因某种原因造成煮沸时间延长或缩短, 检测结果是否会受影响, 是否需要重复试验? 本研究就煮沸时间对 HBV-DNA 检测的影响进行探讨。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 鄂钢医院住院、门诊乙肝患者标本, HBV-DNA 水平分别为 3.52×10^3 、 2.16×10^5 、 5.73×10^7 copy/mL。经对数转换后 HBV-DNA 水平分别为 3.55、5.33、7.76 IU/mL 每标本分 7 次分装。

该稀释方法准确可靠、简便易行, 不仅节省时间且降低成本, 是值得临床推广使用的方法。

参考文献

- 吕汝华, 黄燕, 龙兴黎. 磁酶免技术检测不同浓度血 HCG 稀释倍数的选择[J]. 中国社区医师·医学专业, 2010, 26(8): 142.
- 曾庆洋, 姜朝新, 曾令恒, 等. CP 化学发光仪检测 HCG 适用稀释液及稀释倍数的选择[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(14): 1736-1737.
- 张知, 黄昌艳, 张裕芳, 等. 血 HCG 检测先定性再稀释、定量的探讨[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(6): 682-683.
- 胡士玉, 王海清, 程正江, 等. 自制稀释液在化学发光定量检测 HCG 浓度的应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 20(3): 192-193.
- 李燕, 许庆元. 胶体金早早孕试纸条在定量检测 β-HCG 筛查作用探讨[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(4): 461-462.

(收稿日期: 2014-11-10)

1.2 仪器与试剂 达安 DA7600 实时荧光定量 PCR 仪, 新康医疗 XK98-A 电子石英计时计, 杭州博日 HB-100 恒温金属浴; 达安 HBV-DNA 试剂(批号: 201312)。

1.3 检测方法 取 100 μL 血清标本, 加入 DNA 浓缩液 100 μL, 振荡器振荡混匀, 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上层血清, 再加入 DNA 提取液 20 μL 振荡器振荡混匀, 100 °C 煮沸(时间分别为 5、7、9、10、11、13、15 min), 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清血清 2 μL 做 PCR 试验; 质控如血清标本一样进行处理, 质控血清由北京金豪提供。PCR 扩增: 93 °C 预变性 2 min, 然后按 93 °C 45 s → 55 °C 60 s, 先做 10 个循环, 最后按 93 °C 30 s → 45 °C 60 s, 做 30 个循环。HBV DNA $\leq 1.0 \times 10^2$ copy/mL 为低于检出限, $(1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^8)$ copy/mL 为线性范围。以上各种不同浓度不同煮沸时间的标本各重复进行 3 次。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

同一标本煮沸时间为 5、7、9、11、13、15 min 与煮沸时间为 10 min 检测 HBV-DNA 的结果比较差异均无统计(下转插 I)