

· 论 著 ·

# 免疫比浊法用于全自动生化分析仪中产生钩状效应的防范

滕晓梅

(江苏省徐州市第一人民医院检验科, 江苏徐州 221002)

**摘 要:**目的 正确认识免疫透射比浊法应用于全自动生化分析仪上的抗原过量产生的钩状效应及对这种钩状效应的防范。方法 首先对仪器的测量线性范围上限和仪器自动稀释重做功能进行设置, 然后对设置前超过测量范围上限的样本进行设置测定及设置前且人工对倍稀释测定。结果 设置前测定组平均值为 2.49 g/L 设置后测定组平均值为 3.31 g/L 设置前且人工对倍稀释测定组平均值为 3.33 g/L。结论 高剂量钩状效应使强阳性标本误测为弱阳性, 甚至假阴性结果, 高浓度标本误测为低值, 所以对仪器进行设置且对标本倍比稀释来进行测定, 测出来的值更接近真值。

**关键词:**免疫比浊测定法; 抗原-抗体反应; 防范措施

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)12-1649-02

## The prevention of the hook effect in the automatic biochemistry analyzer by the immune ratio turbidity method

Teng Xiaomei

(Department of Clinical Laboratory, Xuzhou Municipal the First People's Hospital of Jiangsu, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

**Abstract:**Objective To understand correctly the hook like effect of the immune transmission and transmission turbidity in the automatic biochemical analyzer and the prevention of the hook like effect. **Methods** First, it had the function set of measurement linear range of the upper limit of the instrument and the instrument automatic dilution redo, and then, had determination of exceeding the upper limit of measurement range and artificial dilution before the sample setting. **Results** The group average value was 2.49 g/L before the determination setting, 3.31 g/L after the determination setting, and 3.33 g/L artificial dilution determination. **Conclusion** High dose hook effect makes the strong positive to weak positive samples of measurement by error, even false negative results, and high concentration sample makes low value. So the set of samples and dilution to determination of instrument, measured values are more close to the true value.

**Key words:** immunoturbidimetry; the antigen antibody reaction; preventive measures

免疫比浊测定法是将免疫分析引入到生化检测领域而形成的生化-免疫联合应用技术, 它同时具备生化检测的快速性和免疫分析的特异性, 是将现代光学测量仪器与自动化检测系统相结合应用于沉淀反应的方法, 可对各种液体介质中的微量抗原、抗体和药物以及小分子半抗原物质进行定量测定。方法学的基础是抗原-抗体反应, 定量依据是液相浊度分析。在抗体过量阶段, 沉淀物的量随着抗原浓度成比例增加, 当抗原浓度的增加不再增强信号时, 就达到了平衡点。进一步增加抗原的量会导致沉淀物总量减少。当抗原浓度远远超过所有抗体结合容量时, 就会产生可溶性物质。接着互相交联形成的沉淀物无法检测。在抗原过量区域, 所有具有较大病理学浓度范围的人体蛋白, 都受到这种现象的影响。1977 年研究者根据反应曲线的形状提出了“钩状效应”的名称。

### 1 材料与方法

**1.1 标本收集** 选取本院 2012 年 6~12 月门诊、住院样本中 ApoA1 超过线性测量范围极限值上限的样本 50 例。

**1.2 仪器与试剂** 日立 7600 全自动生化分析仪; 日立公司提供配套试剂。

**1.3 方法** 首先测定试剂测量线性范围上限, 测定出试剂的测定 ApoA1 的检测线性范围是 0.25~2.00 g/L, 当样本浓度超过 2.00 g/L 时检测出现钩状效应, 因此将测量范围极限值上限设为 2.00 g/L, 则应将样本人工或仪器自动稀释后测定。其次对仪器自动稀释重做功能进行设置, 当样本浓度高于 2.00

g/L 时, 通过仪器自动稀释功能测定的样本结果与样本真值之间仍存在较大差异, 此时必须加大样本的稀释倍数。最后对设置前超过测量范围上限的样本进行设置前后测定及设置前且人工对倍稀释测定。

**1.4 仪器操作** 按本科制定的 SOP 文件上机测定, 每日做室内质控, 定期参加室间质评, 仪器定期进行日保养周保养月保养, 来保证结果的可靠性。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计学软件进行处理数据。采用  $t$  检验, 以  $\alpha=0.05$  为检验水准,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

经  $t$  检验设置前测定组(设置前测定组平均值为 2.49 g/L)与设置后测定组(设置后测定组平均值为 3.31 g/L)、设置前且人工对倍稀释测定组(设置前且人工对倍稀释测定组平均值为 3.33 g/L)比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 但设置后测定组与设置前且人工对倍稀释测定组所测的结果比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 3 讨 论

因此, 设置前测定平均值与设置后测定平均值及设置前且人工对倍稀释测定组结果差异大, 而设置后测定平均值与设置前且设置前人工对倍稀释测定组结果差异小, 由免疫分析原理可知, 稀释后测定样本测定值更接近真值。临床上高于 2.00 g/L 的样本很少见, 故通过对仪器的设置可避免绝大多数测定

ApoA1 测定时出现的钩状效应。本方法不仅对样本 ApoA1 测定项目适用,而且对日立 7600 全自动生化分析仪上所有免疫浊度分析项目适用。

现代化的全自动生化仪需要设置合适的仪器参数对这些样本进行监测<sup>[2]</sup>,免疫检测中稀释法非常必要,是减少钩状效应发生的最简便最直接的方法<sup>[3]</sup>。免疫检测中稀释法误差小更接近真值,而且实用和简便,方法易于普及,所有的大、中、小实验室都适用。

长期以来,人们普遍认为免疫透射比浊法的灵敏度不够理想,检测范围不够宽。严格地说,前带现象是指抗体过剩时反而使反应信号弱化而使信号-剂量(浓度)曲线呈钩状的现象;后带现象是指抗原过剩使反应信号弱化而使反应信号-剂量曲线呈钩状的现象。因此钩状效应概括了前后带现象。目前,钩状效应针对抗原过剩而言,因此更确切地命名为高剂量钩状效应。高剂量钩状效应使强阳性标本误测为弱阳性,甚至假阴性结果,高浓度标本误测为低值。

用手工或仪器对样本进行前稀释解决抗原过量引起钩状效应的问题,这方法有时会导致抗原浓度过低而造成抗体的绝对过剩,影响测定结果的准确性。原因是免疫复合物颗粒太小阻挡不了光线的通过;或是免疫复合物的数量太少,其浊度变化对光通量的透过影响不大,特别是在低浓度时更加明显<sup>[4]</sup>。但近年来,乳胶颗粒增强免疫技术的大量应用,大大增加了抗原抗体复合物颗粒的直径,检测灵敏度得以大大提高。特别是双乳胶颗粒连接的双抗体技术也得以应用于免疫透射比浊法,其中大乳胶颗粒包被了高反应性抗体,以提高分析灵敏度;小乳胶颗粒包被了低反应性抗体,以此来扩展测量范围,使得检测灵敏度及检测范围大大改善。有学者<sup>[5]</sup>对 IgG、IgA、IgM、

C3、C4、CRP、hs-CRP 7 种血清蛋白研究结果表明,在免疫散射比浊法的低检测范围及高检测范围,免疫透射比浊法均与之有着良好的线性回归。

所以,作为临床实验工作者应该注意日常工作中一些细节问题,高度重视抗原检测中高剂量钩状效应对分析结果的影响,尽量避免将较大病理浓度的抗原误测为低值甚至假阴性,切实提高高浓度抗原检测的准确度。随着新技术的发展和法学改进,新的检测项目不断增多,为临床提供了丰富的诊断信息,对许多疾病诊断、治疗、监测、预后和评估都起着越来越重要的作用。所以在工作中要不断提高临床检验质量,为临床提供可信赖极高的数据资料,更好地为临床服务,为患者服务。

参考文献

[1] Blirup-Jensen S. Protein standardization III: Method optimization basic principles for quantitative determination of human serum proteins on automated instruments based on turbidimetry or nephelometry [J]. Clin Chem Lab Med, 2001, 39(11): 1098-1109.

[2] Ledue TB, Collins MF, Ritchie RF. Development of immunoturbidimetric assays for fourteen human serum proteins on the Hitachi 912 [J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(5): 520-528.

[3] 张明, 陈志英. 引起钩状效应的原因及对策[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(18): 4409.

[4] 张汉园. 透射免疫比浊法和速率散射免疫比浊法测 C 反应蛋白的比较[J]. 江苏大学学报, 2004, 14(4): 348-350.

[5] 彭凤, 应春妹. 免疫透射比浊法与免疫散射比浊法检测特定蛋白的比较研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(1): 45.

(收稿日期: 2015-03-28)

(上接第 1648 页)

(77.21%), 可以实现较高的临床诊断价值。联合检测的灵敏度和特异度与既往研究相比, 无明显不同<sup>[11-14]</sup>。绘制 ROC 曲线, pro-GRP、NSE 及两者联合诊断 SCLC 的 ROC 曲线下面积分别为 0.890、0.810 和 0.915。由于特异度计算和绘制的 ROC 曲线均以良性肺部疾病组和健康对照组为对照, 本研究结果提示, pro-GRP 较 NSE 在鉴别良恶性肺部疾病时, 诊断 SCLC 的价值更高, 但两者联合诊断效果更好。

综上所述, NSE 只能鉴定良恶性肺部疾病, 不能鉴定 SCLC 和 NSCLC; pro-GRP 既可鉴定良恶性肺部疾病, 还可鉴定肺癌的 SCLC 和 NSCLC 病理分型; pro-GRP 和 NSE 均为 SCLC 鉴别诊断中较好的标志物, 且两者联合诊断效果更佳。

参考文献

[1] 时广利, 胡秀玲, 岳思东, 等. 血清肿瘤标志物在肺癌辅助诊断中的应用[J]. 中华肿瘤杂志, 2005, 27(5): 299-301.

[2] 李学祥, 周善良, 王杰杰, 等. 四种肿瘤标志物联合检测在小细胞肺癌中的临床价值[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(1): 1011-1015.

[3] 丁湘或, 张宝秋, 张洁, 等. 肺癌患者血清中肿瘤标志物检测的临床意义[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5(16): 4646-50.

[4] Nordlund MS, Fermer C, Nilsson O, et al. Production and characterization of monoclonal antibodies for immunoassay of the lung cancer marker ProGRP[J]. Tumour Biol, 2007, 28(2): 100-110.

[5] Molina R, Filella X, Augé JM. ProGRP: a new biomarker for small cell lung cancer[J]. Clin Biochem, 2004, 37(7): 505-511.

[6] Harmsma M, Schutte B, Ramaekers FC. Serum markers in small cell lung cancer: opportunities for improvement[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1836(2): 255-272.

[7] 尹颜军, 荣长利, 郑华. proGRP、NSE 在小细胞肺癌鉴别诊断中的意义[J]. 放射免疫学杂志, 2007, 12(1): 137-139.

[8] 赵兵, 张苗苗, 朱灵智, 等. 血清 pro-GRP、NSE 和 TPS 联检在小细胞肺癌中的临床应用[J]. 放射免疫学杂志, 2013, 26(3): 364-365.

[9] 余文骋, 郑小河, 吴洁文. 胃泌素释放肽前体在小细胞肺癌诊断中的研究进展[J]. 汕头大学医学院学报, 2004, 17(2): 127-129.

[10] Kudo K, Ohyanagi F, Horiike A, et al. Clinicopathological findings of non-small-cell lung cancer with high serum progastrin-releasing peptide concentrations[J]. Lung Cancer, 2011, 74(3): 410-404.

[11] 王莉, 贾志凌, 于忠和, 等. 血清 pro-GRP 和 NSE 检测在小细胞肺癌中的意义[J]. 临床肺科杂志, 2010, 15(9): 1235-1236.

[12] 胡范彬, 张同梅, 高远, 等. 小细胞肺癌患者血清中神经特异性烯醇化酶和胃泌素释放肽前体水平与临床特征的关系[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(6): 2480-2483.

[13] Molina R, Augé JM, Bosch X, et al. Usefulness of serum tumor markers, including progastrin-releasing peptide, in patients with lung cancer: correlation with histology[J]. Tumour Biol, 2009, 30(3): 121-129.

[14] Tang JH, Zhang XL, Zhang ZH, et al. Diagnostic value of tumor marker pro-gastrin-releasing peptide in patients with small cell lung cancer: a systematic review[J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(10): 1563-1568.

(收稿日期: 2015-01-02)