

铁剂等药物^[5]。此外,试验器材被铜离子、铁离子、消毒剂污染也可导致假阳性结果。服用大量维生素 C 或其他具有还原作用的药物,则可导致假阴性结果。其他可导致假阴性结果的因素包括:(1)标本中血红蛋白浓度过高,受前带现象影响而出现假阴性结果;(2)血红蛋白中的珠蛋白链在胃酸的作用下迅速水解,或在小肠内被蛋白酶降解,导致血红蛋白失去单克隆抗体可特异性识别、结合的抗原决定簇,或在体外或胃肠道内的细菌作用下,粪便中的血红蛋白缺失免疫活性,导致出现假阴性结果^[6];(3)试剂中的 H₂O₂ 浓度降低,或因保存不当而失效;(4)检测反应时间不足,显色判断不准确。与邻联甲苯胺法相比,匹拉米洞半定量法的灵敏度有所降低,微量血红蛋白可能出现假阴性结果。因此,若匹拉米洞半定量法 FOBT 检测结果为阴性时,有必要采用邻联甲苯胺法进行复检,防止上消化道出血患者标本的漏检,从而提高阳性检出率。与其他 FOBT 检测方法相比,匹拉米洞半定量法和邻联甲苯胺法的检测成本较低,且二者联合应用可提高阳性检出率,因此比较适用于基层医疗机构。若能同时采用基于不同检测原理的方法,如化学法、免疫法等,可进一步保证检测结果准确性,对消化道出血性疾病的诊断与筛查更有临床价值^[7]。

综上所述,应重视 FOBT 在临床的应用,采用切实可行的方法保证检测结果准确性,避免疾病的漏诊、误诊^[8]。化学法 FOBT 检测具有简单、方便、半定量的特点,可用于判断消化道出血程度^[9]。然而,化学法检测易受多种因素的影响而出现假阳性或假阴性结果,不利于判断患者病情变化。此外,单次 FOBT 检测不能反映消化道出血的真实情况,对于疑似隐匿性

· 临床研究 ·

POCT 法与 ACCESS 化学发光法检测心肌标志物的比对

何 喻,管华玲[△]

(盐城市第一人民医院输血科,江苏盐城 224001)

摘要:目的 评价床旁检测(POCT)在急性心肌梗死(AMI)患者中的应用价值。方法 收集 140 例疑似 AMI 患者血清样本,以电化学发光法作为参考方法,以 POCT 法作为实验方法,比较两种方法检测心肌肌钙蛋白 I(cTnI)、肌红蛋白(Myo)、肌酸激酶同工酶 MB 质量(CK-MBmass)的相关性,评价 POCT 检测系统的批内精密度。结果 POCT 法检测低浓度 cTnI 时,与电化学发光法相关性较差($P > 0.05$),检测中浓度与高浓度 cTnI 时,相关性良好($P < 0.05$)。POCT 法与电化学发光法 Myo、CK-MBmass 检测结果相关性良好($P < 0.05$)。POCT 法检测结果对 AMI 的诊断特异度高于电化学发光法,但灵敏度低于电化学发光法($P < 0.05$)。结论 POCT 法检测中、高浓度 cTnI 时,与电化学发光法有良好的相关性,但检测低浓度 cTnI 时相关性较差。POCT 法与电化学发光法 Myo、CK-MBmass 检测结果具有良好相关性。POCT 法对 AMI 的诊断特异度高,但灵敏度较低。

关键词:心肌标志物; POCT; 床旁检测; 电化学发光法; 急性心肌梗死

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.21.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)21-3171-03

早诊断、早治疗是挽救急性心肌梗死(AMI)患者生命的关键。AMI 患者临床症状有时并不典型,心电图也有可能呈非特异性改变,因此心肌标志物检测成为早期诊断 AMI 的重要依据。心肌标志物常规方法检测耗时长,不利于患者的及时诊治。床旁检测(POCT)是一种快速、简便、效率高、检测周转时间短的方法,但如果操作或管理不当,不仅不能有效缩短检测周转时间,而且会影响结果准确性和精确性^[1-2]。本研究根据卫计委关于实验室室内质量控制和内部比对的要求^[3],对 POCT 与电化学发光法心肌标志物检测结果进行了比对分析,旨在探讨 POCT 检测心肌标志物在 AMI 诊疗中的临床应用

消化道出血、溃疡性病变患者,应连续进行 3 次检测,以增加结果准确性^[10]。

参考文献

- 吕辉,马亚平. 化学法和单克隆法检测粪便潜血的诊断价值[J]. 临床医学与检验, 2011, 8(3): 358-359.
- 贾红丽. 邻联甲苯胺法、匹拉米洞法、免疫胶体金法三种粪便隐血试验测定的评价[J]. 中国保健营养, 2013, 23(1): 295.
- 黄善忠. 两种粪便隐血检测方法的比较[J]. 中国美容医学, 2011, 20(6): 185-186.
- 陈伟红. 关于联合免疫法和化学法检测粪便隐血的临床应用研究[J]. 中国医药指南, 2011, 9(30): 30-31.
- 王伟伟,翟秀英. 粪便隐血试验 2 种检测方法比较[J]. 临床合理用药, 2012, 5(9): 73.
- 林颜玉,劳小斌,王柏旺. 3 种粪便隐血试剂的试验评估及影响因素探讨[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(11): 1304-1308.
- 袁乐永,李艳,徐万洲,等. 临床三种常规大便隐血检测方法的评价及其应用[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(2): 73.
- 邓光权. 胶体金法和联苯胺法在检测粪便隐血中的应用[J]. 实用医技杂志, 2013, 20(7): 758-759.
- 黄丽,罗刚惠,时爱玲. 胶体金单克隆抗体法与匹拉米洞法检测粪便隐血的对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(3): 348-349.
- 吕海军. 两种粪便隐血检测方法局限性的探讨[J]. 中国实用医刊, 2013, 40(8): 98-99.

(收稿日期:2015-05-08)

价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 3~12 月于本院重症监护病房及内科病房住院治疗的疑似 AMI 患者 140 例,年龄 46~88 岁,男 90 例、女 50 例,其中 86 例符合《内科学(第 5 版)》关于 AMI 的诊断标准^[4],确诊为 AMI,其余 54 例非 AMI 患者中,冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)30 例、原发性高血压 24 例。

1.2 仪器与试剂 美国 PBM 公司 Dxpress 型检测仪及配套固相免疫层析法心肌三项联合检测试条板作为 POCT 检测系

统;心肌肌钙蛋白 I(cTnI)>0.03 ng/mL、肌红蛋白 (Myo)≥80 ng/mL、肌酸激酶同工酶 MB 质量 (CK-MBmass)≥5 ng/mL 都表示检测结果为阳性,提示患者可能存在心肌损伤^[5]。美国贝克曼-库尔特公司 ACCESS 型全自动电化学发光免疫分析仪及配套 cTnI、Myo、CK-MBmass 检测试剂盒;cTnI 0.03~0.1 ng/mL 判为心肌损伤,cTnI≤0.03 ng/mL 判为心肌无损伤,cTnI>0.1 ng/mL 判为疑似心肌梗死。POCT 检测系统及电化学发光免疫分析系统均使用配套质控品,质控品检测结果均在控制范围内。

1.3 方法 以真空采血管采集所有受试对象静脉血标本 5 mL,静置 30 min,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清标本。所选标本均无溶血、脂血及黄疸。根据电化学发光法 cTnI 检测结果,将标本分为高浓度、中浓度、低浓度及阴性 4 个水平,cTnI≤0.03 ng/mL 为阴性,>0.03 ng/mL 为阳性,0.03~0.29 ng/mL 为低浓度,0.3~1 ng/mL 为中浓度,>1 ng/mL 为高浓度,每个水平各 20 例标本。采用 POCT 检测系统,在 2 h 内分别对高、低浓度混合血清标本重复检测 10 次,计算检测结果均值(\bar{x})、标准差(s)和变异系数(CV)。根据国际临床化学与检验医学联合会心肌标志物标准化委员会推荐的标准,当 $CV_{cTnI} < 10\%$ 、 $CV_{Myo} < 5.6\%$ 、 $CV_{CK-MBmass} < 9.2\%$ 时,判为 POCT 检测批内精密度良好^[6]。同时采用 POCT 检测系统对高、中、低浓度标本进行检测,分析不同方法检测结果的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理和统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,相关性分析采用直线相关分析,相关系数(r)绝对值大于 0.75 时判为相关性好。计数资料以百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P<0.05$ 为比较差异或分析参数有统计学意义。

2 结 果

2.1 POCT 法检测精密度试验结果 以高、低浓度标本作为检测对象,POCT 法 cTnI、Myo、CK-MBmass 检测结果及 CV 值见表 1。POCT 法检测低浓度标本的批内精密度较差,各指标 CV 值均高于相关推荐标准。

表 1 POCT 法检测结果及精密度

项目	检测结果(ng/mL)		CV(%)	
	高浓度标本	低浓度标本	高浓度标本	低浓度标本
cTnI	81.07±4.61	1.37±0.61	8	43
Myo	67.87±8.23	200.09±20.13	13	9
CK-MBmass	4.71±0.59	12.38±1.39	14	11

2.2 POCT 法与电化学发光法的相关性分析结果 低浓度标本 POCT 法与电化学发光法 cTnI 检测结果相关性较差($r=0.31, P>0.05$),中、高浓度标本两种方法 cTnI 检测结果相关性良好(r 分别为 0.81、0.83, $P<0.05$)。低、中、高浓度标本 POCT 法与电化学发光法 Myo、CK-MBmass 检测结果相关性良好(低、中、高浓度标本 Myo 检测结果 r 分别为 0.90、0.93、0.80,CK-MBmass 检测结果 r 分别为 0.89、0.84、0.79, $P<0.05$)。

2.3 POCT 法与电化学发光法诊断效能比较 POCT 法与电化学发光法对 AMI 的诊断特异度、灵敏度见表 2。POCT 法诊断特异度高于电化学发光法,但灵敏度低于电化学发光法($P<0.05$)。

表 2 不同方法对 AMI 的诊断特异度与灵敏度(%)

检测方法	特异度	灵敏度
POCT 法	98.1	75.6
电化学发光法	63.0	98.8
P	<0.05	<0.05

3 讨 论

持续性胸痛、心电图检查结果异常、心肌酶检测结果等都是诊断 AMI 的重要依据,但在 AMI 发病早期,多数患者心电图检查结果无明显异常,因此易出现漏诊、误诊。采用 POCT 法进行 CK-MBmass、Myo、cTnI 等心肌标志物进行检测,有助于 AMI 的诊断^[1]。本研究以 ACCESS 电化学发光法分析系统作为参考系统,主要原因包括在于该分析系统使用的试剂盒具有较好的溯源性,精密度好,准确性高,分析仪保养、维修、校准等程序比较完善,参加省及卫计委临检中心室间质评成绩优秀,以及检测线性范围较 POCT 法更宽。

心肌肌钙蛋白 (cTn)、CK-MBmass 和 Myo 是目前用于 AMI 诊断的最常用指标,但具有不同的代谢动力学特征,因此具有不同的临床应用价值。

当心肌细胞发生损伤时,Myo 是最早进入血液的标志物。AMI 患者发病后 2 h,外周血 Myo 水平即升高,6~9 h 达峰值,24~36 h 恢复至正常水平。Myo 对于 AMI 的诊断特异度不高,肾功能障碍、骨骼肌损伤、外伤等疾病均可能引起 Myo 水平异常增高,但由于 Myo 释放早、半衰期短、清除快、灵敏度高,因此阴性结果对于早期除外 AMI 诊断具有重要的价值。Myo 是用于诊断心肌损伤的最佳早期标志物。本研究中,POCT 法与电化学发光法 Myo 检测结果相关性良好,表明两种方法检测结果均可用于判断溶栓或血管成形术治疗患者冠脉再灌注程度的指标。

肌酸激酶同工酶 MB(CM-MB)是心肌细胞中重要的能量调节酶,也是心肌损伤后第 2 个进入血液的标志物。AMI 患者发病后 4~6 h,外周血 CK-MB 水平即可超过正常上限,24 h 达峰值,48~72 h 恢复正常。CK-MB 对 AMI 的诊断灵敏高,但骨骼肌损伤也有可能导致 CK-MBmass 水平增高,因此其特异度较低。CK-MBmass 动态检测常用于监测有无心肌再梗死的发生。本研究中,POCT 法与电化学发光法 CK-MBmass 检测结果相关性良好,表明两种方法检测结果都可以用于监测有无再梗死的发生。

心肌损伤发生后第 3 个出现异常的标志物是 cTn。由于 cTnI、cTnT 为心肌特有,因此对 AMI 的诊断特异度较高。正常情况下,外周血中不可检出 cTn。与 CK-MB 相似,在心肌细胞损伤后 4 h 外周血 cTn 水平即可出现升高,峰浓度水平与梗死面积大小相关,但 cTn 的检测窗口期长(4 h 至 14 d)。cTnI、cTnT 的细胞分布和功能不一样,且释放机制不同,但二者的临床诊断效能相似。由于各种 cTnT 检测方法使用的是相同的专一抗体,所以检测结果具有可比性。然而,不同方法 cTnI 检测结果差异较大,主要原因在于不同方法使用的 cTnI 抗体不同(分别针对不同的 cTnI 抗原决定簇),并且外周血中的 cTnI 具有异质性,至少存在 11 种亚型,而不同抗体对各型 cTnI 的识别能力不一样^[7~16]。目前,cTnI 检测仍然没有通用的定标物或参考物,更没有针对同一抗原决定簇的标准化诊断试剂,因此不同方法 cTnI 检测结果的一致性问题亟待解决^[7]。

本研究中, cTnI 处于中、高浓度时, POCT 法与电化学发光法检结果相关性良好, 但处于低浓度时, 两种方法检测结果相关性差, 可能与上述因素有关。此外, 本研究中的 POCT 分析系统采用的是固相免疫层析法, 灵敏度小于电化学发光法, 有待进一步改善。

综上所述, 完善的 POCT 检测具有快速、准确、方便等特点, 对心肌标志物的检测特异度高, 与电化学发光法有较高的可比性, 但 cTnI 检测结果与电化学发光法相关性较差, 批内精密度也有待提高。

参考文献

- [1] 杨振华, 潘柏申, 许俊堂. 中华医学会检验学会文件心肌损伤标志物的应用准则[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(3): 185-189.
- [2] Price CP. Point of care testing[J]. BMJ, 2001, 322(7297): 1285-1288.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 医疗机构临床实验室管理办法[Z]. 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2006.
- [4] 叶任高. 内科学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社. 2001: 155-171.
- [5] 邱锡荣, 彭冬迪, 唐荣, 等. 三种心肌标志物检测对心肌梗死及心力衰竭临床诊断的价值[J]. 检验医学, 2011, 26(12): 814-817.
- [6] Wu AH, Apple FS, Gibler WB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases[J]. Clin Chem, 1999, 45(7): 1104-1121.
- [7] 谢正乐, 毛小飞. 心肌标志物检测的发展历程和未来[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009, 22(1): 64-68.
- [8] Saha B, Evers TH, Prins MW. How antibody surface coverage on nanoparticles determines the activity and kinetics of antigen capturing for biosensing[J]. Anal Chem, 2014, 86(16): 8158-8166.
- [9] Fukunaga A, Tsumoto K. Improving the affinity of an antibody for its antigen via long-range electrostatic interactions[J]. Protein Eng Des Sel, 2013, 26(12): 773-780.
- [10] Li F, Yu Y, Cui H, Yang D, et al. Label-free electrochemiluminescence immunosensor for cardiac troponin I using luminol functionalized gold nanoparticles as a sensing platform[J]. Analyst, 2013, 138(6): 1844-1850.
- [11] Kim DH, Paek SH, Lim GS, et al. Performance characteristics of monoclonal antibodies as recyclable binders to cardiac troponin I [J]. Anal Biochem, 2012, 431(1): 11-8.
- [12] Lappe JM, Pelfrey CM, Coteur A, et al. Cellular proliferative response to cardiac troponin-I in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy[J]. Clin Transl Sci, 2011, 4(5): 317-322.
- [13] Song SY, Han YD, Kim K, et al. A fluoro-microbead guiding chip for simple and quantifiable immunoassay of cardiac troponin I (cTnI)[J]. Biosens Bioelectron, 2011, 26(9): 3818-3824.
- [14] Lowenthal MS, Gasca-Aragon H, Schiel JE, et al. A quantitative LC-MS/MS method for comparative analysis of capture-antibody affinity toward protein antigens[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2011, 879(26): 2726-2732.
- [15] Akanda MR, Aziz MA, Jo K, et al. Optimization of phosphatase- and redox cycling-based immunosensors and its application to ultrasensitive detection of troponin I[J]. Anal Chem, 2011, 83(10): 3926-3933.
- [16] Haas MS, Alicot EM, Schuerpf F, et al. Blockade of self-reactive IgM significantly reduces injury in a murine model of acute myocardial infarction[J]. Cardiovasc Res, 2010, 87(4): 618-627.

(收稿日期: 2015-05-16)

· 临床研究 ·

洗板次数与浸泡时间对 ELISA 法 HBsAg 检测结果的影响

闫朝春

(江苏省连云港市东方医院检验科, 江苏连云港 222042)

摘要: 目的 探讨洗板次数与浸泡时间对酶联免疫吸附法(ELISA)HBsAg 检测结果的影响。方法 采用平行试验的方法, 改变洗板次数和洗板浸泡时间, 对阴性对照、阳性对照、质控品及临床标本进行 ELISA 法 HBsAg 检测。对结果进行统计学分析。结果 只改变洗板次数的情况下, 阴性对照、阳性对照及质控品光密度值(OD 值)均值均随洗板次数增加而降低; 弱阳性标本 OD 值比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 弱阳性标本阳性率随洗板次数增加而降低。只改变洗板浸泡时间的情况下, 阴性对照、阳性对照及质控品 OD 值均值均随浸泡时间增加而降低; 弱阳性标本 OD 值也随浸泡时间的增加而降低($P < 0.05$), 弱阳性标本阳性率也随浸泡时间增加而降低。结论 洗板是 ELISA 操作中的关键步骤, 人为改变洗板次数和浸泡时间均会影响检测特异度和灵敏度, 必须严格按照说明书的要求进行洗板操作。

关键词: 酶联免疫吸附试验; 洗板次数; 浸泡时间

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.21.043

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2015)21-3173-03

酶联免疫吸附试验(ELISA)因灵敏度高、特异性强、重复性好、操作简单、费用低廉而被广泛应用, 例如 ELISA 检测乙肝表面抗原(HBsAg)敏感度可达 0.5 ng/mL^[1]。然而, 影响 ELISA 检测结果准确性的因素较多, 如试剂因素、温育条件、洗板方式等, 因此操作不当会造成结果偏差^[2]。在临床工作中, 应根据实验室的实际条件, 对各环节操作进行标准化管理, 排除潜在的影响因素, 可最大限度地降低检测的系统误差。本研究分析了洗板次数和浸泡时间对 ELISA 法 HBsAg 检测

结果的影响, 旨在确定最佳洗板次数和浸泡时间。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 ELISA 法 HBsAg 检测试剂盒购自北京万泰生物药业股份有限公司(批号: B20140306)。Addcare ELISA 600 型酶免分析工作站购自烟台艾德康生物科技有限公司。质控品购自北京康彻思坦公司(批号: 201311003, HBsAg 浓度 2 IU/mL)。真空分离胶加促凝剂采血管购自广州阳普医疗科技股份有限公司(批号: 141005)。