

• 论 著 •

# 自配免疫洗液在罗氏电化学发光免疫分析系统中的应用研究\*

周明欣, 吕燕海, 丁友辉

(广州中医药大学附属高州中医院检验科, 广东高州 525200)

**摘要:**目的 采用自配免疫洗液(三丙胺清洗液、电池检测清洗液)替代进口原装洗液在罗氏电化学发光免疫系统中的应用。方法 自配免疫洗液与罗氏原装洗液执行性能测试,按罗氏 E601 电化学发光全自动免疫分析仪的操作说明书进行免疫洗液的准确性、测量范围和免疫样本检测。结果 采用罗氏 E601 电化学发光全自动免疫分析仪对自配、原装免疫洗液的甲胎蛋白(AFP)、人绒毛膜促性腺激素加  $\beta$  片段( $\beta$ -hCG)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、促甲状腺激素(TSH)水平进行测定并比较其检验准确性,两者的检验准确性比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );选取最低值和最高值的标本测量范围,对自配、原装免疫洗液的测量范围进行比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );细菌培养统计细菌数无明显变化。结论 自配免疫洗液可替代罗氏进口原装洗液在罗氏电化学发光免疫分析系统上使用,其准确度高、稳定性好。

**关键词:**免疫洗液; 乳化; 防腐

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.03.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)03-0295-03

## Study on application of self-made immune cleaning solution in Roche electrochemiluminescence immune analysis systems\*

ZHOU Mingxin, LYU Yanhai, DING Youhui

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Gaozhou Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Gaozhou, Guangdong 525200, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the application of self-made immune cleaning solution (tripropylamine cleaning fluid, cell detection cleaning fluid) instead of the imported original cleaning solution in Roche electrochemiluminescence immune systems. **Methods** The execution performance of self-made immune cleaning solution and imported original cleaning solution was tested. The accuracy, immunity sample examination and measurement range of immune cleaning solution were conducted according to the operating manual of Roche E601 electrochemical luminescence automatic analyzer. **Results** The levels of alpha-fetoprotein (AFP),  $\beta$ -human chorionic gonadotropin ( $\beta$ -HCG), triiodothyronine (T3) and thyroid-stimulating hormone (TSH) were measured by the Roche E601 electrochemical luminescence automatic analyzer with the two kinds of cleaning solution. The detection accuracies between them had no statistical difference ( $P>0.05$ ); The sample measurement ranges of lowest value and highest value were selected for conducting the comparison, the difference had no statistical significance ( $P>0.05$ ); the bacterial count by bacterial culture statistics had no obvious change. **Conclusion** The self-made immune cleaning solution can replace imported original cleaning solution to be used in the Roche electrochemiluminescence immune system with high accuracy and good stability.

**Key words:** immune cleansing solution; emulsify; antiseptic

罗氏电化学发光仪在国内市场的占有率约 38%,近四成的市场占有率得益于产品性能稳定、检验结果准确及产品线的全覆盖,可是罗氏 E601 电化学发光全自动免疫分析仪的免疫洗液及消耗品使用量大。自配免疫洗液(三丙胺清洗液及电池检测清洗液)是常用的消耗品,自配免疫洗液与原装洗液同质化,但自配免疫洗液价格相对便宜。本文就自配免疫洗液制备及其与原装洗液的测试结果进行比较分析,现报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 罗氏 E601 电化学发光全自动免疫分析仪由罗氏诊断产品(上海)有限公司提供, SX5150 实验室酸碱浓度计由上海三信仪表厂提供。罗氏原装系统洗液由罗氏诊断产品(上海)有限公司提供;性能测试洗液包括试剂空白液、促甲状腺激

素定标液低值、促甲状腺激素定标液高值均由罗氏诊断产品(上海)有限公司提供。

**1.2 方法** (1)三丙胺清洗液制备:取适量的三丙胺(180 mol/L)溶于添加了乳化剂、防腐剂的磷酸缓冲液中,超声乳化 30 min,调整 pH 值至 6.8,用 0.2  $\mu$ m 的滤膜过滤,滤液置入密闭容器中待用;(2)电池检测清洗液制备:取适量氢氧化钾(3 mol/L)溶于添加了去垢剂的溶液中,超声乳化 30 min,调整 pH 值至 13.2,用 0.2  $\mu$ m 的滤膜过滤,滤液置入密闭容器中待用。(3)免疫洗液的性能测试:在罗氏 E601 电化学发光全自动免疫分析仪“香蕉架”上的 5 个位置分别放置相应的试剂,其中 1 号位放置试剂空白液,2 号位放置三丙胺清洗液,3 号位放置电池检测清洗液,4 号位放置促甲状腺激素定标液低值,5 号

\* 基金项目:广东省茂名市科技计划资助项目(茂科字[2016]7 号 2016234)。

作者简介:周明欣,男,副主任技师,主要从事生化检验研究。

位置置促甲状腺激素定标液高值;在维修软件上执行性能测试;做完后用性能测试工具分析数据,会得到相应的结果。(4)按罗氏 E601 电化学发光全自动免疫分析仪的操作说明书进行免疫洗液的准确性、测量范围和免疫样本检测的结果比较。(5)菌落培养:分别取自配三丙胺清洗液和电池检测清洗液适量进行细菌培养并同时进行培养后的细菌数与培养前细菌数计数。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,均数比较采用  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有

统计学意义。

2 结 果

2.1 检验准确性比较 免疫洗液性能测试的结果合格后,采用罗氏 E601 电化学发光全自动免疫分析仪对自配、原装免疫洗液的甲胎蛋白(AFP)、人绒毛膜促性腺激素加  $\beta$  片段( $\beta$ -hCG)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、促甲状腺激素(TSH)水平进行测定并比较其检验准确性,两者的检验准确性比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

| 表 1 自配、原装免疫洗液的检验准确性比较( $\bar{x} \pm s$ ) |          |            |                      |            |                   |
|--|----------|------------|----------------------|------------|-------------------|
| 项目                                       | <i>n</i> | AFP(IU/mL) | $\beta$ -hCG(mIU/mL) | T3(mmol/L) | TSH( $\mu$ IU/mL) |
| 自配免疫洗液                                   | 50       | 18.55±0.38 | 382.26±6.70          | 4.47±0.22  | 3.75±0.06         |
| 原装免疫洗液                                   | 50       | 18.69±0.40 | 381.33±6.51          | 4.45±0.23  | 3.76±0.05         |
| <i>t</i>                                 |          | 0.583      | 0.651                | 0.535      | 0.822             |
| <i>P</i>                                 |          | >0.05      | >0.05                | >0.05      | >0.05             |

| 表 2 自配、原装免疫洗液测量范围比较 |          |            |                      |            |            |
|---------------------|----------|------------|----------------------|------------|------------|
| 项目                  | <i>n</i> | AFP(IU/mL) | $\beta$ -hCG(mIU/mL) | T3(mmol/L) | T4(mmol/L) |
| 自配免疫洗液              | 50       | 2.0~1 000  | 0.9~10 000           | 0.5~10     | 5.7~330    |
| 原装免疫洗液              | 50       | 2.3~1 000  | 1.2~10 000           | 1.3~10     | 5.8~330    |

2.2 测量范围比较 选取超出检测范围样本通过稀释法测量 AFP、 $\beta$ -hCG、T3、甲状腺素(T4)这 4 个指标,对自配、原装免疫洗液的最低和最高检测阈值的测量范围比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

2.3 免疫样本检测结果比较 选取原装、自配免疫洗液 5 份样本对乙型肝炎核心抗体(HBcAb)、乙型肝炎 e 抗体(HBeAb)、乙型肝炎表面抗体(HBsAb)、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、AFP、癌胚抗原(CEA)、游离前列腺特异性抗原(FPSA)、总前列腺特异性抗原(TPSA)、糖类抗原-125(CA125)这 10 个指标进行检测,自配洗液与原装洗液的 10 个指标检测结果比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3。

| 表 3 免疫样本检测结果比较 |             |        |        |
|----------------|-------------|--------|--------|
| 样本             | 指标          | 原装免疫洗液 | 自配免疫洗液 |
| 1              | HBcAb(COI)  | 0.008  | 0.008  |
|                | HBeAb(COI)  | 1.020  | 1.010  |
|                | HBsAb(IU/L) | 1 000  | 1 000  |
|                | HBeAg(COI)  | 0.126  | 0.126  |
|                | HBsAg(COI)  | 0.383  | 0.339  |
| 2              | AFP(IU/mL)  | 2.530  | 2.330  |
|                | CEA(ng/mL)  | 3.430  | 3.460  |
|                | FPSA(ng/mL) | 0.751  | 0.726  |
|                | TPSA(ng/mL) | 6.470  | 6.070  |
| 3              | AFP(IU/mL)  | 1.900  | 2.230  |
|                | CA125(U/mL) | 12.730 | 12.750 |
|                | CEA(U/mL)   | 0.646  | 0.723  |

| 续表 3 免疫样本检测结果比较 |             |         |         |
|-----------------|-------------|---------|---------|
| 样本              | 指标          | 原装免疫洗液  | 自配免疫洗液  |
| 4               | HBcAb(COI)  | 0.015   | 0.015   |
|                 | HBeAb(COI)  | 0.944   | 0.977   |
|                 | HBsAb(IU/L) | 209.200 | 207.200 |
|                 | HBeAg(COI)  | 0.128   | 0.127   |
|                 | HBsAg(COI)  | 0.125   | 0.128   |
| 5               | AFP(IU/mL)  | 2.600   | 2.470   |
|                 | CEA(U/mL)   | 1.900   | 1.920   |
|                 | FPSA(ng/mL) | 0.199   | 0.194   |
|                 | TPSA(ng/mL) | 0.367   | 0.353   |

2.4 菌落培养结果分析 分别取自配三丙胺清洗液和电池检测清洗液适量进行细菌培养,在显微镜下进行细菌计数,结果自配三丙胺清洗液和电池检测清洗液的细菌数均小于 100 cfu/L,与培养前比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

3 讨 论

本研究自配罗氏 E601 电化学发光全自动免疫分析的免疫洗液与罗氏原装洗液的性能测试结果比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),因此在实际的应用中无需重新定标,可直接替换原装洗液在罗氏免疫测试中使用<sup>[1-3]</sup>。这为医院降低使用成本,减轻病患的经济负担,也符合国家提倡以自配产品替代进口产品的号召。随着检验医学发展及免疫测定技术的不断更新,电化学发光免疫分析技术被临床实践工作中逐渐应用,其是在电极表面由电化学引起的特异性化学反(下转第 299 页)

因家族由 Tim-1、Tim-2、Tim-3 组成。Tim-3 及其配体 Gal-9 是近年来研究得较为深入的免疫检测点分子,鉴于其在 Th1 细胞免疫,自身免疫和肿瘤免疫耐受的重要功能使其成为肿瘤免疫研究的焦点<sup>[8]</sup>。Tim-3 主要通过参与 T 细胞功能障碍或耗竭及扩增髓系来源移植细胞增殖等在肿瘤免疫中起负调控作用<sup>[9]</sup>。而 Gal-9 作为 Tim-3 的特异性配体,与 Tim-3 一起调控机体抗肿瘤的免疫应答<sup>[10]</sup>。本研究基于在基因水平上检测 CIN 和不同分化程度的 SCC 患者组织和血清中 Tim-3 及其配体 Gal-9 的表达来探讨其在 SCC 诊断及预后的临床意义。

该研究中,RT-PCR 结果显示 Tim-3 及其配体 Gal-9 在 SCC 各组的组织中表达高于 CIN 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),进一步分析发现 Tim-3 及 PSCC、MSCC、WCC 组中 Gal-9 表达比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明 Tim-3 和 Gal-9 在 SCC 中表达,而在各组表达呈现由低分化癌向高分化癌递增的现象,表明 Tim-3 和 Gal-9 的病理分级呈现明显的正相关( $r$  分别为 0.738、0.671)。同时在血清中对 Gal-9 的表达与病理分级的正相关性作进一步验证,ELISA 结果显示,SCC 血清中 Gal-9 水平明显高于对照组和 CIN 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),在不同病理分级下,亦由 PSCC 至 WCC 呈现明显递增关系( $r = 0.687$ )。可见 Gal-9 无论在 mRNA 表达量还是分泌至外周血的表达均比对照组及 CIN 组高且与病理分级呈正相关,可与 Tim-3 一同作为病理分级和预后的指标。

综上所述, Tim-3 和配体 Gal-9 的表达与 SCC 呈正相关,而癌组织的分化程度越高,其恶性程度越低,说明 Tim-3 和 Gal-9 是一种抗肿瘤的负血调控因子,可为临床的诊断和预后提供参考依据。

## 参考文献

[1] 乐杰. 妇产科学[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2000:

(上接第 296 页)

应<sup>[4-5]</sup>,该项技术具有免疫测定自动化的新方法,其具有灵敏度高、测量范围宽及结果稳定的优点,同时应用的范围广、洗液保存时间也较长。在综合性及基层医院均可满足样本需求,但其洗液价格较为昂贵,三丙胺在发光缓冲液中具有电子供体的作用,但其不易溶于水,需乳化剂进行乳化<sup>[6-7]</sup>。

本研究结果显示,性能测试的测试数值均达到罗氏电化学发光免疫分析系统的要求,自配和原装免疫洗液和定标液测定检查结果比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );细菌培养统计的菌落数无明显变化。因此,自配免疫洗液准确度高、稳定性好。可是,自配免疫洗液中发现最难解决的是防腐问题,没加防腐剂的洗液质控结果可以衰减至靶值的一半<sup>[8]</sup>,其与细菌嗜好乳化剂有关,若通过减少乳化剂的量,溶解的三丙胺量也相应减少而影响发光效果,在配制洗液时加入防腐剂,可以从源头开始抑菌且不影响主体光电反应。

综上所述,自配免疫洗液完全可以替代罗氏原装免疫洗液,其准确度高、稳定性好,值得临床应用。

## 参考文献

[1] 万汝根,孙建民,张勇军,等. 自配日立生化分析仪碱性清洗液的应用研究[J]. 浙江检验医学,2011,9(2):33-35.  
[2] 黄建平,胡建华,周蔚,等. 日立 7180 型全自动生化分析

314.

- [2] Su EW, Lin JY, Kane LP. TIM-1 and TIM-3 proteins in immune regulation[J]. Cytokine, 2008, 44(1):9-13.
- [3] Rennert PD. Novel roles for TIM-1 in immunity and infection[J]. Immunol Lett, 2011, 141(1):28-35.
- [4] 程贵,蒋敬庭,吴昌平. Tim-3 在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2012, 17(3):219-222.
- [5] 魏东,匡怡,刘孟刚,等. Tim-3 在肝癌细胞中的表达及其对细胞增殖与迁移能力的影响[J]. 重庆医学, 2014, 43(16):1975-1978.
- [6] 赵国栋,朴勇瑞. Tim-3 在前列腺癌中的表达及其意义[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(8):1241-1244.
- [7] Michael W, Crahan W, Dempfle HL. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR[J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30(1):1-10.
- [8] Kaori S, Pushpa J, Samuel M, et al. Emerging Tim-3 functions in antimicrobial and tumor immunity[J]. Trends Immunol, 2011, 32(8):345-349.
- [9] Anderson AC. Tim-3, a negative regulator of anti-tumor immunity[J]. Curr Opin Immunol, 2012, 24(4):213-216.
- [10] Keiko N, Tomohiro A, Souichi O, et al. Galectin-9 increases Tim-3 dendritic cells and CD8T cells and enhances anti-tumor immunity via galectin-9-Tim-3 interactions [J]. J Immunol, 2008, 181(8):7660-7669.

(收稿日期:2016-08-07 修回日期:2016-10-30)

仪碱性清洗液的配制和临床应用[J]. 医学检验与临床, 2014, 25(5):84-85.

- [3] 肖静,杨元好,蒋艺勤,等. Roche 电化学发光免疫分析系统发光缓冲液和清洗液配制及应用[J]. 检验医学与临床, 2006, 3(4):152-153.
- [4] 谭浩. 电化学发光免疫分析系统 E170 的应用评价[J]. 实用预防医学, 2011, 30(5):527-528.
- [5] 乔国昱,何亚萍. 两种免疫分析仪测定孕中期孕妇血清 AFP 和  $\beta$ -hCG 结果的对比分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 26(7):743-745.
- [6] 尹志军,隋洪,郑文婷,等. 罗氏 Cobas e411 加样/洗液针日常保养的重要性[J]. 中国医疗设备, 2013, 25(2):150-143.
- [7] 李荣海,陈勋,李琦,等. 罗氏电化学发光分析仪自配配套清洗缓冲溶液应用评价[J]. 生物医学工程与临床, 2013, 21(5):82-86.
- [8] 乔国昱,何亚萍. 两种免疫分析仪测定孕中期孕妇血清 AFP 和  $\beta$ -hCG 结果的对比分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 26(7):743-745.

(收稿日期:2016-08-01 修回日期:2016-10-21)