

参考文献

[1] 陈继梅, 丁雪芳, 许叶虹. 乙丙肝重叠感染者血清学及病毒学检测结果分析[J]. 中国实验诊断学, 2014, 4(4): 651-653.

[2] Lee YH, Hsu CY, Hsia CY, et al. Alcoholism worsens the survival of patients with hepatitis B virus and C virus-related hepatocellular carcinoma[J]. Hepatol Int, 2013, 7(2): 645-654.

[3] 丁淑芬, 徐立新, 邢海玲, 等. HCV 与 HBV 重叠感染者与乙型或丙型肝炎的临床研究[J]. 实用肝脏病杂志, 2010, 13(4): 295-296.

[4] 沈哲式. 延边地区慢性乙肝合并丙肝患者病毒复制的分析[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4): 311.

[5] 张爱民, 王慧芬, 王海滨, 等. HBV 基因型与 HBV 感染慢性化、重症化的关系[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2010, 24(3): 178-180.

[6] Tyson GL, Kramer JR, Duan Z, et al. Prevalence and predictors of hepatitis B virus coinfection in a United States cohort of hepatitis C virus-infected patients[J]. Hepatology, 2013, 58(2): 538-545.

[7] 刘红虹, 罗生强. 2014 年欧洲肝病学会丙型肝炎治疗指南推荐意见

见(2014 年 4 月)[J]. 临床肝胆病杂志, 2014, 30(6): 577-582.

[8] 府伟灵, 徐克前, 王培昌, 等. 临床生物化学检验[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012.

[9] 王玉书, 金吉子, 关宏铜. 免疫球蛋白的作用机制及临床应用研究进展[J]. 延边大学医学学报, 2007, 30(2): 143-145.

[10] 王伟群, 王孙尧. 手足口病患者血清免疫球蛋白 A 检测的临床意义[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2012, 19(1): 42-43.

[11] Alberti A, Pontisso P, Chemello L, et al. The interaction between hepatitis B virus and hepatitis C virus in acute and chronic liver disease[J]. J Hepatol, 1995, 22(1 Suppl): 38-41.

[12] Zampino R, Pisaturo MA, Cirillo G, et al. Hepatocellular carcinoma in chronic HBV-HCV co-infection is correlated to fibrosis and disease duration[J]. Ann Hepatol, 2014, 14(1): 75-82.

[13] 赵凌云. 血液透析患者乙肝合并丙肝病毒标志物检测分析[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(20): 4823.

(收稿日期: 2016-02-15)

双试剂阳性样本复检结果分析及检测策略调整研究

王霞, 潘彤, 李红珠, 杨文玲[△]

(天津市血液中心检验科, 天津 300110)

摘要:目的 通过对双试剂阳性样本的复检结果进行分析, 探讨现有检测策略调整的可行性。方法 对 2012 年 1 月至 2014 年 12 月对 HBsAg、抗-HIV、抗-HCV 和抗-TP 为 ELISA 双试剂检测阳性标本的复检结果进行统计分析。结果 双试剂阳性标本复检阳性率分别为, HBsAg: 99.69%~100%、抗-HIV: 100%、抗-HCV: 98.96%~99.94% 和抗-TP: 99.86%~100%。
结论 双试剂阳性样本复检结果可以作为对检测策略调整的依据。

关键词: 酶联免疫吸附测定; 乙型肝炎病毒; 丙型肝炎病毒; 梅毒螺旋体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.047

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)08-1123-03

ELISA 试验可用于各种疾病的筛查和诊断, 特别适用于血站输血相关感染的筛查。目前血站实验室采用 ELISA 主要检测 HBsAg、抗-HIV、抗-HCV 和抗-TP。按照《血站实验室质量管理规范》^[1]、GB/T22576-2008/ISO15189-2007《医学实验室质量和能力的专用要求》^[2]、ISO/IEC15189-2008《医学实验室质量和能力的认可准则》及血站技术操作规程(2012)要求^[3-4], 血站血液筛查实验室在采用一项新的检测方法, 或更换现有检测方法时需要考虑的因素包括完成检测必需的仪器、试剂、校准品、实验程序及其组合、检测策略等。笔者回顾性分析近 3 年的双试剂阳性样本复检结果, 旨在探讨酶免检测策略调整的可行性及问题, 现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 采自天津市血液中心 2012 年 1 月至 2014 年 12 月无偿献血者, 年龄 18~55 岁, 体检合格, 献血前经过 HBsAg 初筛(金标法)及血液比重检测(硫酸铜比重法)合格。献血后按照卫生部要求对血样进行 5 个项目的初、复检。

1.2 试剂与仪器 HBsAg 初筛金标试纸条(厦门新创公司), 初、复检试剂(深圳丽珠、荷兰梅里埃公司); 抗-HCV 初、复检试剂(北京万泰、美国强生公司); 抗-HIV 初、复检试剂(北京万泰、荷兰梅里埃、法国伯乐及英国索灵公司); 抗-TP 初、复检试剂(北京华大吉比爱、北京万泰及北京高达公司); ALT 初、复

检试剂(上海荣盛、上海科华公司)。酶免初复检质控品为北京康彻斯坦, ALT 高、低值质控品为朗道公司产品。所有试剂均通过中国药品生物制品检定所批检合格, 且在有效期内使用。主要检测仪器包括 STAR 全自动加样系统和 FAME24/20 全自动酶免分析系统和东芝 TBA-120FR 全自动生化分析仪。

1.3 方法 ALT 检测采用速率法, ≥ 40 IU/L 为不合格, HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 和抗-TP 初、复检均采用 ELISA 法。目前本血站采用初、复检初次反应性均进行双孔复检, 双孔阳性为阳性, 复检结果一阴一阳也判定为阳性即作不合格报废处理, 抗-HIV 阳性送天津市疾病预防控制中心进行确认。所有试验均严格按照试剂盒说明书要求进行操作。

1.4 统计学处理 使用统计软件 SPSS16.0 进行统计分析, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBsAg 双试剂阳性标本的复检 2012 年 1 月至 2014 年 12 月献血者 HBsAg 双试剂阳性标本的复检结果见表 1。各年份的复检不合格率间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 抗-HIV 双试剂阳性标本的复检 2012 年 1 月至 2014 年 12 月献血者抗-HIV 双试剂阳性标本的复检结果见表 2。各年份的复检不合格率间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

[△] 通讯作者, E-mail: yangwenling@tjbc.org.cn.

表 1 HBsAg 双试剂阳性结果的复检情况

年份	n	HBsAg			
		不合格(n)	不合格率(%)	合格(n)	合格率(%)
2012 年	264	264	100.00	0	0.00
2013 年	300	300	100.00	0	0.00
2014 年	326	325	99.69	1	0.31
合计	912	911	99.89	1	0.11

表 2 抗-HIV 双试剂阳性的复检情况

年份	n	抗-HIV			
		不合格(n)	不合格率(%)	合格(n)	合格率(%)
2012	53	53	100.00	0	0
2013	59	59	100.00	0	0
2014	71	71	100.00	0	0
合计	183	183	100.00	0	0

2.3 抗-HCV 双试剂阳性标本的复检 2012 年 1 月至 2014 年 12 月献血者抗-HCV 双试剂阳性标本复检结果见表 3。各年份的复检不合格率间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3 抗-HCV 双试剂阳性标本复检情况

年份	n	抗-HCV			
		不合格(n)	不合格率(%)	合格(n)	合格率(%)
2012	288	285	98.96	3	1.04
2013	250	249	99.60	1	0.40
2014	277	276	99.64	1	0.36
合计	815	810	99.39	5	0.61

2.4 抗-TP 双试剂阳性标本的复检 2012 年 1 月至 2014 年 12 月献血者血液检测抗-TP 双试剂阳性复检结果见表 4。各年份的复检不合格率间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 4 抗-TP 双试剂阳性标本复检情况

年份	n	抗-TP			
		不合格(n)	不合格率(%)	合格(n)	合格率(%)
2012	712	711	99.86	1	0.14
2013	671	671	100.00	0	0.00
2014	716	715	99.86	1	0.14
合计	2099	2097	99.90	2	0.10

3 讨 论

血站技术操作规程对初次试验有反应性的检测标本的后续处理有 2 种方案^[4]。方案 1:以同一试验对原血样(或从血袋导管重新取样)做双孔复试,如果双孔复试结果均为无反应性,其初试有反应性可能由于假反应性或技术误差导致,检测结论为无反应性,血液可放行供临床使用;如果双孔复试结果中任何 1 孔为有反应性,则检测结论为有反应性,对应的血液及其制备的所有成分应隔离并报废,将血液标本转送相关实验室做进一步确证或补充试验。方案 2:不做重复试验,初次试验结论即为检测最终结论。

本血站检验科的既往检测策略是对 ELISA 初检有反应性标本均采用以同样的试验方法对原血样做双孔复试,如果双孔复试结果均为阴性,检测结论为阴性,血液可放行供临床使用;如果双孔复试结果中任何 1 孔为阳性,检测结论也为阳性,对应的所有产品均为不合格并作报废处理。回顾分析近 3 年的初次反应为双试剂阳性的样本,经二次复检后阳性率约为 99.39%~100%,而且统计结果也表明 3 年 4 项血液筛查检测结果的不合格率也保持稳定状态。据此对检测策略进行更改:ELISA 初次试验双试剂阳性标本,其检测结论为阳性,不再进行双孔复试;而对单试剂初次试验为阳性样本采用以同一试验对原血样做双孔复试,如果双孔复试结果均为阴性,检测结论为阴性,血液可放行供临床使用;如果双孔复试结果中任何 1 孔为阳性,检测结论为阳性,对应的所有产品均为不合格。

通过此次检测策略的调整确认使有以下几点体会:(1)若检测策略调整为双试剂阳性直接报废不再进行复试对于提高血液安全是有利的但同时也会造成血液资源的浪费;(2)检测策略调整会大大减少不必要的复试从而减轻人力,节约物力与财力;(3)血液检测方法的确认不是一性次试验,而是一项需要持续开展的质量活动,实验室应在一定时间周期内对已经过确认的检查方法的性能包括策略等进行验证、确认与调整,才能获得准确、稳定检测结果的证据。

总之,血站血液筛查实验室应该在检测过程发生的变化进行必要的方法确认^[5-7]。这些变化包括实验室首次引入的检测方法、已确认的方法条件发生变化、试剂的更换、仪器设备的大修及大保养等。凡是涉及实验室检测方法的任何改变,均需在投入使用前参照相关标准实施确认^[8-12]。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 卫医发[2006]183 号 血站实验室质量管理规范 2007[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2006.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 22576-2008 医学实验室质量和能力的专用要求[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [3] 中国合格评定国家认可委员会. EC15189-2008 医学实验室质量和能力的认可准则[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2008.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 国卫医发[2015]95 号 血站技术操作规程[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,2015.
- [5] 葛红卫,王鸿捷. 血站核酸检测实验室过程确认与变更控制[J]. 中国输血杂志,2012,25(6):519-523.
- [6] 葛红卫,王鸿捷. 血站实验室血液检测方法确认的技术实践[J]. 中国输血杂志,2014,27(4):345-348.
- [7] 王鸿捷,葛红卫. 医药领域的确认指南对血站实施确认活动的启示[J]. 中国输血杂志,2011,24(10):915-920.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP10-A3 Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods; approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP12-A2 User proto-

col for evaluation of qualitative test performance; approved guideline[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2010.

line[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2010.

[12] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2 User verification of performance for precision and trueness; approved guide-

(收稿日期:2016-02-11)

• 临床研究 •

CYFRA21-1、NSE、CEA 和 CA12-5 在原发性肺癌 早期诊断中的临床应用评价

王秋香, 杨爱平, 周冬

(复旦大学附属华山医院宝山分院呼吸科, 上海 200431)

摘要:目的 探讨血清标志物联合应用是否增加原发性肺癌早期诊断的灵敏度与特异度。方法 回顾性分析进行巢式 PCR 检测的病例, 统计近年首诊原发性肺癌患者资料, 确保年龄、性别、吸烟相同的情况下随机选择健康体检及肺良性疾病患者, 分别作为对照组和良性疾病组。结果 肺癌患者血清肿瘤标志物水平明显高于肺良性疾病患者和健康体检者 ($P < 0.01$)。在正常参考范围时细胞角蛋白 19 片段 (CYFRA21-1)、癌胚抗原 (CEA)、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、CA12-5 对肺癌患者诊断的灵敏度分别为 60.5%、27.4%、38.4%、和 44.2%; 特异度分别为 90.6%、91.9%、98.6%、和 86.8%。肿瘤标志物联合应用时, 其灵敏度提高到 71.6%。根据 ROC 曲线得出最佳诊断阈值, 肿瘤标志物联合应用灵敏度提高到 84.2%。鳞状细胞癌, 腺癌和小细胞癌阳性率最高的标志物分别为 CYFRA21-1、CA12-5、NSE。结论 ROC 曲线分析得出最佳诊断阈值可以提高原发性肺癌早期诊断的灵敏度, 肿瘤标志物联合应用可以用于肺癌的鉴别诊断及病理分型。

关键词: 肺肿瘤; 细胞角蛋白 19 片段抗原; 癌胚抗原; 神经元特异性烯醇化酶

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.048

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)08-1125-03

肺癌是最常见的恶性肿瘤, 每年全球肺癌的新发病例超过 120 万, 死亡的人数高达 100 万^[1]。根据世界卫生组织 (WHO) 定期公布的数据显示, 肺癌的发病率和死亡率在世界各国均呈明显上升趋势。尽管肺癌可以进行外科手术、放射和药物治疗, 但其总的 5 年存活率仍在 15% 以下。肿瘤标志物包括癌胚抗原 (CEA)、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、鳞状细胞抗原等, 在肿瘤患者外周血中的浓度明显升高, 可用于肿瘤的早期诊断、预后判断及疗效监测。在肺腺癌中大多可以检测到有免疫活性的癌胚抗原和 CA12-5, 但其特异性不高^[2]; NSE 是神经元和神经内分泌细胞所特有的一种酸性蛋白酶, 存在于人类所有细胞中, 在大多数小细胞肺癌患者中其水平往往升高^[3], 对肺癌患者连续监测血浆中 NSE 水平可以反映其体内肿瘤的发展变化情况^[4], 但 NSE 同样存在特异性不高的问题, 偶尔在非肿瘤性疾病者也有升高。鳞状细胞癌抗原是一种由子宫颈鳞状细胞组织萃取的一种糖蛋白, 其灵敏度为 33%~61%^[5]。细胞角蛋白 19 片段 (CYFRA21-1) 为上皮细胞骨架蛋白, 已有研究显示它对非小细胞肺癌的灵敏度和特异度均较高^[6]。本研究的目的是检测 190 例肺癌、212 例肺良性疾病和 180 例健康对照组血清 CA12-5、CEA、CYFRA21-1 和 NSE 水平。然后进行统计分析, 评价这些肿瘤标志物的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1 月至 2014 年 12 月来上海华山宝山分院就诊的 582 例患者分为 3 组。肺癌组: 190 例, 男 132 例、女 68 例, 平均 67.2 岁, 其中 30 例早期肺癌, 晚期肺癌低分化 160 例, 鳞癌 68 例, 腺癌 76 例, 小细胞肺癌 46 例; 肺良性疾病组: 212 例, 女 60 例、男 152 例, 平均 67.9 岁; 对照组: 180 例健康体检者, 男 124 例、女 56 例, 平均 69.0 岁。所有肺癌患者均经内镜检查和活检确诊, 研究得到了上海华山宝山分院医学伦理委员会批准。所有患者均得到知情同意书并签字确认。

1.2 方法 患者于清晨空腹采静脉血 3~5 mL, 静置 20 min

后离心 (3 000 r/min, 5 min), 分离外周血 -20 °C 保存待检。CA12-5、CEA、CYFRA21-1 和 NSE 检测试剂由瑞士罗氏公司生产, 实验室参考值上限分别为 35 U/mL、10 ng/mL、3.3 ng/mL、16 ng/mL。肿瘤标志物血清学水平超过实验室参考值上限认为阳性, 换另一台仪器复查 (贝克曼公司产品), 并建议 1 周后再次检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析, 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。ROC 曲线及曲线下面积 (AUC) 用于探讨血清肿瘤标志物的诊断参数价值。多元 Logistic 回归分析建立诊断数学模型。在该模型的基础上, ROC 曲线分析计算最佳诊断预测值。

2 结果

2.1 3 组血清肿瘤标志物检测的情况及临床资料。 3 组血清肿瘤标志物 CA12-5、CEA、CYFRA21-1 和 NSE 及年龄、性别等结果描述见表 1。肺癌组血清 CA12-5、CEA、CYFRA21-1 和 NSE 结果明显高于肺良性疾病组及健康对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 然而肺良性疾病组与健康对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。不同的血清肿瘤标志物在肺癌诊断中的灵敏度及特异度不同。研究结果显示血清 CEA 具有很高的特异度 (98.6%), 但灵敏度较低 (26%)。血清 CYFRA21-1 具有最高的灵敏度 (60.5%)。

2.2 不同病理类型与临床分期血清肿瘤标志物阳性率 研究显示不同部位及不同组织类型的肺癌血清肿瘤标志物阳性率无明显差异, 然而不同的临床分期和病理类型阳性率明显不同, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。不同的肿瘤标志物在不同病理类型肺癌诊断中的阳性率分别为不同的, 见表 2。CYFRA21-1 体现在鳞状细胞癌阳性检出率明显高于其他肿瘤标志物; CEA、CA12-5 体现在腺癌阳性检出率均高于其他标记物, NSE 体现在小细胞癌阳性检出率最高。