

• 临床研究 •

不同稀释液对化学发光免疫法测定血清雌二醇浓度的影响*

王洪珍, 陈小芳[△]

(江苏省镇江市第四人民医院生殖中心 212001)

摘要:目的 探讨不同稀释液对化学发光免疫法测定血清高浓度雌二醇(E2)的影响,选择适用稀释液,减少检验成本支出。方法 选取生殖中心 20 例高值 E2(2 522~4 793 pg/mL)的患者血清,分别用 E2 专用稀释液,自制低值混合血清及生理盐水进行 10 倍稀释,然后上 DXI800 化学发光分析仪检测并计算结果,所得各稀释组 E2 值与原始值作配对 *t* 检验并作相关性及线性回归分析。结果 各稀释组 E2 值与原始值比较,差异有统计学意义($P=0.000$),低值混合血清组 E2 值与原始值偏差最小,生理盐水组偏差超出允许范围;E2 专用稀释液组,低值混合血清组及生理盐水组的 E2 值与原始值的相关系数分别为 0.998、0.998 和 0.967,回归分析常数项 E2 专用稀释液组绝对值最小,生理盐水组绝对值最大。结论 除 E2 专用稀释液外,低值混合血清可以用作 DXI800 化学发光分析仪测定高浓度 E2 的替代稀释液,而生理盐水不能用作稀释测定高值 E2。

关键词:稀释; 化学发光免疫; 雌二醇**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.13.031**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2016)13-1827-02

妇产科内分泌学的发展离不开生殖激素测定方法的不断改进,生殖医学的临床工作要求激素测定结果准确、快速。其中血清雌二醇(E2)是促排卵方案的一项重要监测指标,促排卵方案的应用,E2 测量值常超出测定上限 4 800 pg/mL。为利于生殖治疗中方案的调整及防治卵巢过度刺激综合征发生,临床要求对超出线性范围的高浓度 E2 进行稀释定量测定,仪器专用 E2 稀释液较贵且在保质期内使用,由于目前此类标本量不多,促使检测成本较高,为减少检验成本支出选择适用稀释液,研究者用不同稀释液对化学发光免疫法测定高浓度 E2 进行稀释测定并对结果进行统计分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2014 年 6~11 月本院生殖中心顺磁性颗粒化学发光免疫法测定 E2 结果为 2 522~4 793 pg/mL 的患者静脉血清标本 20 例,置-30℃保存。

1.2 仪器与试剂 全自动化学发光仪 DXI800 和 E2 测定试剂盒均由美国贝克曼库尔特公司提供,试剂批号均在有效期内。

1.3 方法

1.3.1 自制低值混合血清的制备方法 选择本实验室体检健康男性血清,取体检结果无异常,生化指标及血常规指标均无明显异常的无溶血、无黄疸、无脂血的新鲜血清标本制成混合血清,再上机检测混合血清的 E2 浓度,检测结果为 20~50 pg/mL 时,可作为合格的自制 E2 标本稀释液(本实验的混合血清的 E2 浓度为 35 pg/mL),然后 56℃水浴灭活 10 h 后再 3 000 r/min 离心 10 min,小包装分装保存于-30℃冰箱,半年内有效,使用前 30 min 置室温融化,避免反复冻融。

1.3.2 检测方法 将 20 例标本分别用 E2 专用稀释液,自制低值混合血清,生理盐水按 1:10 稀释(50 μL 标本+450 μL 稀释液)混匀后上机检测并计算结果。血清 E2 原始值和不同稀释方法计算值按原始值、E2 专用稀释液组、低值混合血清组和生理盐水组分类统计。

1.4 统计学处理 数据分析采用 SPSS17.0 统计软件,对不同稀释组 E2 值与原始值之间比较采用配对 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义,使用 Pearson 相关分析计算不同稀释组与原始值的相关系数并拟合线性回归方程。

2 结果

E2 专用稀释液组中 E2 水平为(3 421.75±708.52)pg/mL 与原始值(3 167.85±657.35)pg/mL 比较,差异有统计学意义($t=-17.068$, $P=0.000$);自制低值混合血清组(3 008.85±642.17)与原始值比较,差异有统计学意义($t=15.582$, $P=0.000$);生理盐水组(10 073.6±1 341.38)与原始值比较,差异均有统计学意义($t=-42.608$, $P=0.000$)。E2 专用稀释液组、低值混合血清组和生理盐水组的 E2 值与原始值之间的相对差值分别为-8.01%、5.10%和-222.10%;Pearson 相关系数分别为 0.998、0.998 和 0.967;线性回归方程分别为 $Y=0.926X-0.639$ 、 $Y=1.021X+94.63$ 和 $Y=0.474X-1 607.89$;回归常数项显著性分析, P 分别为 0.989、0.070 和 0.000;回归系数显著性分析, P 均为 0.000。

3 讨论

化学发光免疫法是目前测定激素类物质的常用方法,随着全自动分析仪的应用,测试简便快速。但仪器都有一定的检测范围,尽管 DXI800 检测 E2 的范围达 20~4 800 pg/mL,但随着近年生殖医学体外受精-胚胎移植临床工作的开展,促排卵方案的应用,E2 测量值常大于 4 800 pg/mL,而 E2 结果对治疗方案的调整和防治卵巢过度刺激综合征发生至关重要,因此需要对超出线性范围的高浓度 E2 进行稀释定量测定。由于不同的稀释介质会对稀释结果造成不同的偏差,甚至对临床医生产生误导,引发医患矛盾和医疗纠纷。为确保结果的准确性,应选择适当的稀释液,使检测结果偏差控制在可允许的范围内。专用 E2 稀释液较贵,为减少检验成本支出选择适用稀释液,采用 E2 专用稀释液,自制低值混合血清及生理盐水对化学发光免疫法测定的高浓度 E2 进行稀释测定并对结果进

* 基金项目:江苏省镇江市重点研发计划社会发展项目(SH2015073)。

[△] 通讯作者,E-mail:chenxiaofang369@126.com。

行统计分析。

本试验选取生殖中心 20 例高值 E2(2 522~4 793 pg/mL) 的患者血清, 分别用 E2 专用稀释液, 自制低值混合血清及生理盐水进行 10 倍稀释, 然后上 DXI800 化学发光分析仪检测并计算结果, 所得各稀释组 E2 值与原始值作配对 *t* 检验, 差异均有统计学意义($P=0.000$)。各稀释组 E2 值与原始值的相关性与线性回归分析显示, E2 专用稀释液组值、低值混合血清组值与原始值相关系数均为 0.998, 生理盐水组值与原始值相关系数为 0.967, 三组都呈正相关; 回归系数显著性分析 P 均为 0.000, 说明三组回归分析模型整体差异有统计学意义($P<0.05$); 回归常数项即回归方程截距, E2 专用稀释液组最小, 为 -0.639, $P=0.989$ 表明对于不同浓度 E2 值, 用 E2 专用稀释液组值与原始值的回归方程拟合出的结果最接近原始值, 低值混合血清组, 回归常数项较大为 94.633, 但 $P=0.070$, 大于 0.05, 表示常数项比较差异无统计学意义, 对于不同浓度 E2 值, 其回归方程拟合出的结果仍接近原始值, 生理盐水组回归常数项为 -1607.887, $P=0.000$, 表示常数项差异有统计学意义, 对于不同浓度 E2 值, 其回归方程拟合出的结果与原始值差异有统计学意义($P<0.05$)。对超出检测线性范围的高值标本作适当的稀释时, 稀释液的酸碱度和电解质会影响反应体系中 pH 值、离子强度, 反应介质的改变会直接影响反应的结果, 另外稀释液中的蛋白质、脂类、糖类、特有离子等物质也会间接的影响抗原抗体的结合^[1]。低值混合血清的 pH 值、离子强度、蛋白质、脂类、糖类物质与待测血清标本基本一致, 所以其测定的不同浓度 E2 与原始值偏差最小, 为 5.10%, E2 专用稀释液基质接近血清, 其测定结果与原始值偏差较小, 为 -8.01%, 两者偏差在允许范围内, 均可以作为高浓度血清 E2 的稀释液使用; 生理盐水的 pH 值、离子强度与待测血清标本相似, 但其不含蛋白质、脂类、糖类物质, 与待测血清标本有较大差异, 所以其测定结果与原始值偏差最大, 为 -222.10%, 超出可允许范围, 说明生理盐水不可以用于高浓度血清 E2 的稀释测定。

不同稀释液对化学发光免疫法测定血清 E2 浓度影响的报道很少, 本研究结果与包安裕等^[2]研究结论有差异, 后者各稀释组与原始值差异进行配对 *t* 检验, 差异无统计学意义($P>0.05$), 生理盐水稀释标本得到的 E2 值与原始值比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。可能原因如下: (1) 两种实验测量血清 E2 所用的仪器和试剂不同, 测量范围也不同; (2) 两种实验研究的标本 E2 浓度不同, 本研究标本 E2 浓度为 2 522~4 793 pg/mL, 后者研究标本的 E2 浓度未明确, 但在线性范围 10~1 000 pg/mL。因此, 不同仪器、不同试剂检测 E2 高值标本稀释液的选择可能是不同的, 但都需要进行临床实验验证, 以确保定测定结果的准确可靠。

在化学发光免疫法人绒毛膜促性腺激素(HCG)稀释测定研究中, 曾庆洋等^[3]认为健康男性混合血清是一种比较理想的稀释液; 也有研究者认为生理盐水可以作为高值 HCG 稀释之用^[4-5]。实际工作中生理盐水也常用于化学发光免疫法泌乳

素、雌三醇等稀释测定, 因此设计方案时没想到生理盐水稀释 E2 标本的结果与原始值差异会如此之大; 相关性分析时, 生理盐水稀释组结果与原始值如此强相关也出乎意料。查阅资料健康男性混合血清 E2 值可低于 20 pg/mL^[2], 实验中对体检健康男性混合血清进行 E2 检测发现测定数值为 35~65 pg/mL。因此, 临床实验只有不断验证才能得到正确的结论。

生殖医学的医生要根据 E2 等激素监测患者的用药效果, 以便调整治疗措施, 要求实验室检测结果快速准确, 而 E2 等激素常随个体月经周期的变化而变化, E2 等测定值本身对检测结果准确性也有监测的作用^[6-8]。实际应用中, 临床医生发现有时 E2 检测结果与患者卵泡发育情况会有偏差, 因此, 为保证实验结果的准确性, 实验室应重视标本分析前、分析中和分析后的质量管理, 每天做好室内质控, 结果在控方可审发报告, 定期参加室间质控等质量控制工作。

综上所述, 化学发光免疫法检测 E2 高值超出线性范围的标本, 不建议使用生理盐水稀释标本, 在没有专用 E2 稀释液的情况下, 可以使用健康男性混合血清稀释替代(计算结果需减去混合血清本身的 E2 浓度), 如果使用回归方程算出标本 E2 值, 结果可能更准确。

参考文献

- [1] 胡伟, 毕永春, 宋景秋, 等. 不同稀释液对血清中 HBsAg 定量测定的影响[J]. 东南大学学报(医学版), 2010, 29(4): 464-466.
- [2] 包安裕, 李艳, 苏汉文. 稀释介质与稀释方式对化学发光免疫法测定血清雌二醇浓度的影响[J]. 标记免疫分析与临床, 2011, 18(4): 271-273.
- [3] 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.
- [4] 李云, 李艳红, 郭书侠. 高值人绒毛膜促性腺激素不同稀释液的测定结果比较[J]. 华北煤炭医学院学报, 2009, 11(3): 316-316.
- [5] 陈广福, 段侠霞, 任晓兵, 等. 不同稀释液对血清 HCG 测定的影响[J]. 航空航天医药, 2009, 20(1): 19.
- [6] 杨池荪, 王振红, 姜彦彬, 等. 化学发光免疫法测定生殖激素的质量控制[J]. 标记免疫分析与临床, 2008, 15(6): 393-395.
- [7] 李洋, 何瑞冰, 曹振毅, 等. 不同稀释介质及方式对化学发光免疫法测定血清雌二醇浓度的影响[J]. 临床输血与检验, 2015, 17(4): 327-330.
- [8] 包安裕, 李艳, 苏汉文. 稀释介质与稀释方式对化学发光免疫法测定血清雌二醇浓度的影响[C]//中华医学会全国临床检验实验室管理学术会议论文集. 北京: 中华医学会检验医学分会, 2011: 271-273.