

- 早期诊断价值[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(3): 321-322.
- [10] 张铂, 秦英智. 首次血清降钙素原水平在评价呼吸机相关性肺炎感染程度和预后的意义[J]. 天津医药, 2009, 37(5): 365-367.
- [11] Previsdomini M, Gini M, Cerutti B, et al. Predictors of positive blood cultures in critically ill patients: a retrospective evaluation[J]. Croat Med J, 2012, 53(1): 30-39.
- [12] 李雪华, 黄少兴, 卓丽文. 血清降钙素原检测在细菌感染
- 临床研究 •

- 性疾病中的诊断意义[J]. 现代医院, 2013, 13(2): 57-58.
- [13] Karlsson S, Heikkinen M, Pettili V, et al. Predictive value of procalcitonin decrease in patients with severe sepsis: a prospective observational study[J]. Crit Care, 2010, 14(6): R205.
- [14] 邓长生. 诊断学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 14-16.

(收稿日期: 2016-10-18 修回日期: 2016-12-29)

自动化学发光免疫分析仪检测血清 25-羟基维生素 D 的性能评价

张 旋, 赵志敏, 阳红梅

(深圳市龙岗区妇幼保健院检验科, 广东 518000)

摘 要:目的 对自动化学发光免疫分析仪测定 25-羟基维生素 D 的检测性能进行验证和评估, 以确定是否满足临床检测的要求。方法 根据美国国家临床实验室标准化委员会的 EP5-A2 方案评价精密度, EP17-A 方案评价灵敏度, EP6-A2 方案评估线性范围, 并采用雅培全自动化学发光法和液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)分别测定 50 例健康体检儿童的血清 25-羟基维生素 D, 比较测定结果的相关性和偏倚。结果 雅培全自动化学发光法检测的精密度和灵敏度符合试剂盒的声明, 可以接受。线性范围涵盖了健康者和绝大多数患者的检测水平, 可以满足临床需要。自动化学发光免疫分析仪对 50 例体检儿童血清标本的检测结果与当前作为“金标准”的 LC-MS/MS 相比, 结果符合性较好。结论 自动化学发光免疫分析仪测定 25-羟基维生素 D 在精密度、灵敏度、线性范围方面均符合要求, 对临床血清标本的 25-羟基维生素 D 的检测结果也与当前作为“金标准”的 LC-MS/MS 符合性较好, 可以满足临床检测的要求。

关键词: 25-羟基维生素 D; 精密度; 灵敏度; 线性范围

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.06.048

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)06-0846-03

维生素 D 是一种人体必需的脂溶性维生素, 不仅具有传统意义上的骨骼效应, 它还有着广泛的非骨骼效应, 与心血管疾病、免疫疾病、糖尿病、肿瘤等疾病密切相关^[1-2]。25-羟基维生素 D 测定是衡量维生素 D 营养状态的最佳指标。目前 25-羟基维生素 D 的测定方法有多种, 液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)是目前作为“金标准”的检测方法, 但其技术复杂需要专业操作人员, 仪器昂贵且自动化程度不高, 在一定程度上限制了其在临床中用于 25-羟基维生素 D 的常规检测^[3-4]。美国雅培公司提供了化学发光法的 25-羟基维生素 D 检测试剂盒, 可使用自动化学发光免疫分析仪检测, 操作便捷, 检测时间也被极大缩短。本研究依据美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)相关文件标准, 对仪器检测性能进行了评估, 并采用此方法对 50 例体检儿童血清 25-羟基维生素 D 水平进行了检测, 并且将检测结果与“金标准”的 LC-MS/MS 法对比, 分析其临床适用性, 旨在明确自动化学发光免疫分析仪是否能满足临床检测要求。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2016 年 3—5 月在深圳市龙岗区妇幼保健院儿童保健科体检的 50 例儿童的血液标本, 其中男 28 例、女 22 例, 年龄 3~6 岁。

1.2 仪器与试剂 采用美国雅培公司 i2000 型全自动化学发光免疫分析仪, 雅培公司的配套试剂、质控品和校准品, 所有检测项目均严格按照说明书操作 LC-MS/MS 系统由美国 Waters 公司 Acquity UPLC 型色谱仪系统和美国 AB SCIEX 公司 API 4000 Qtrap 型串联四极杆质谱仪组成。

1.3 方法

1.3.1 精密度试验 根据 NCCLS 的方案 EP5-A2 进行, 使用

两个批号的试剂, 在同一台仪器上, 对由 3 个雅培 25-羟基维生素 D 质控品进行检测, 每天在两个不同的时间段分别检测两次, 共检测 20 d。

1.3.2 灵敏度试验 根据 NCCLS 的方案 EP17-A 进行, 对 4 个零浓度的标本和 8 个 25-羟基维生素 D 浓度在 3.4~9.5 ng/mL 之间的标本进行检测, 使用两个批号的试剂, 在两台仪器上, 将这些标本分 5 个批次进行检测, 检测 5 d。

1.3.3 线性范围 根据 NCCLS 的方案 EP6-A 进行。使用四对标本, 将含高浓度 25-羟基维生素 D(浓度范围为 78.4~165 ng/mL)的标本按照比例用含低浓度 25-羟基维生素 D(浓度范围为 0.2~10.7 ng/mL)的标本进行稀释, 每对标本共得到 11 个稀释标本, 然后使用雅培 25-羟基维生素 D 项目进行检测。

1.3.4 方法学比较 对本院儿童的 50 例血液标本用自动化学发光免疫分析仪和 LC-MS/MS 法分别进行测定。

1.4 统计学处理 记录并整理试验数据, 采用 MedCalc15.10 对试验数据进行统计作图, 使用 Passing-Bablok 方法进行回归分析, Bland-Altman 方法进行比较。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密度试验结果 3 个不同水平的质控血清标本在自动化学发光免疫分析仪上进行精密度测试的结果见表 1, 满足试剂盒声明的不精密度。

2.2 灵敏度试验 雅培 25-羟基维生素 D 检测项目的空白限为 1.9 ng/mL, 检测限为 3.1 ng/mL, 定量限为 8.0 ng/mL, 与试剂盒声明一致, 可以接受。

2.3 线性范围 采用绝对偏差≤20%的值, 得出自动化学发光免疫分析仪检测 25-羟基维生素 D 的线性范围为 9.4~

165.5 ng/mL,可满足临床要求。

2.4 方法学比较 50 例新鲜血清标本的 25-羟基维生素 D 检测结果经 Passing-Bablok 回归分析显示,两种方法的测定值呈明显的相关($r=0.89$),斜率为 1.15,截距为-1.62,见图 1。Bland-Altman 曲线显示两种方法的平均偏倚为 2.4 ng/mL,见图 2。

表 1 精密度测试结果

标本	试剂批号	n	浓度均值 (ng/mL)	批内		批间	
				SD	CV%	SD	CV%
低值质控品	1	80	19.0	0.709	3.7	0.712	3.8
	2	80	19.5	0.589	3.0	0.889	4.6
中值质控品	1	80	38.5	0.873	2.3	1.142	3.0
	2	80	38.0	0.879	2.3	1.062	2.8
高值质控品	1	80	78.4	1.470	1.9	2.201	2.8
	2	80	76.3	1.485	1.9	2.034	2.7

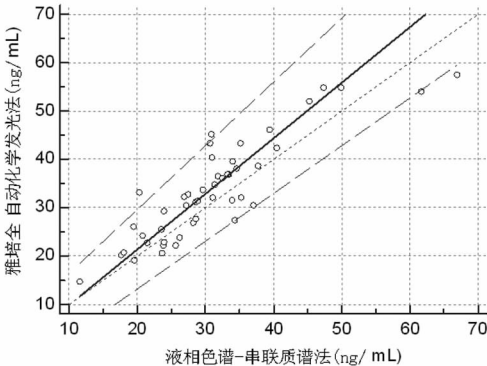


图 1 两种方法测定结果的相关性

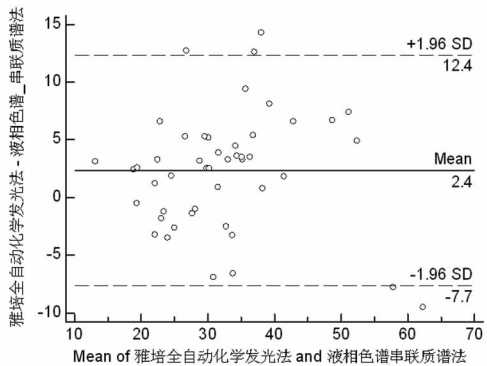


图 2 两种测定方法的偏倚分析

3 讨 论

维生素 D 是一种人体必需的脂溶性维生素,维持正常的维生素 D 水平对调节钙、磷代谢至关重要。自身合成和食物源的维生素 D₂ 和维生素 D₃ 经血液循环进入肝脏,在维生素 D 25-羟化酶作用下转化为 25-羟基维生素 D₂ 和 25-羟基维生素 D₃,总称为 25-羟基维生素 D。25-羟基维生素 D 在人体中比较稳定且浓度较高,能反映食物摄入和自身合成的维生素 D 总量,以及维生素 D 的转化能力,因此 25-羟基维生素 D 被认为是衡量维生素 D 营养状态的最佳指标^[5-8]。现有多种方法用于临床 25-羟基维生素 D 的测定,根据方法原理,可分为酶免疫分析法和色谱法。LC-MS/MS 是色谱法中最为常用的 25-羟基维生素 D 检测方法。标本经处理后采用液相色谱分离,

检测器为串联质谱仪,在多反应监测扫描模式下,实现分子、离子和碎片离子两次质量选择,可同时检测 25-羟基维生素 D₂ 和 25-羟基维生素 D₃,具有非常高的检测特异性,被认为是“金标准”的检测技术^[9-11]。但 LC-MS/MS 技术复杂,需要专业操作人员,仪器昂贵,自动化不高,需要自己开发方法,在一定程度上限制了 LC-MS/MS 在临床常规 25-羟基维生素 D 检测中的应用。而免疫法方便快捷,适用于自动化分析,随着检测需求的增加,自动化免疫学方法可能更适于临床检测的需要^[12]。

美国雅培公司提供了可以使用自动化学发光免疫分析仪检测的试剂盒,正是满足了这一需求,但其检测性能是否满足临床需要应通过实验予以验证和评估。本研究依据国际权威的 NCCLS 制定的 EP 文件方案对其检测的精密度、灵敏度和线性范围进行了验证,评估其临床适用性。结果显示其精密度、灵敏度均在试剂盒声明的范围之内,可以接受。线性范围为 9.4~165.5 ng/mL,可满足临床需要。为比较化学发光法与 LC-MS/MS 检测 25-羟基维生素 D 的差异,本研究对 50 例新鲜血清标本进行了对比分析。Passing-Bablok 回归分析结果显示,测定结果的回归方程截距为-1.62,斜率为 1.15。Cusum 检验证实方法间的线性偏倚差异无统计学意义($P>0.05$)。Bland-Altman 的方法学差异分析结果显示,两种方法之间的偏倚为 2.4 ng/mL。

综上所述,自动化学发光免疫分析仪检测 25-羟基维生素 D 的精密度、灵敏度和线性范围均符合要求。与“金标准”的 LC-MS/MS 比较,两种方法之间存在一定的偏倚,但差异无统计学意义,可以满足临床检测要求。

参考文献

[1] Afzal S, Brondum-Jacobsen P, Bojesen SE, et al. Vitamin D concentration, obesity, and risk of diabetes: a mendelian randomisation study [J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2014, 2(4): 298-306.

[2] Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011, 96(7): 1911-1930.

[3] 禹松林, 韩建华, 张江涛, 等. 同位素稀释超高效液相色谱串联质谱法快速测定血清 25-羟维生素 D₂ 和 25-羟维生素 D₃ 临床方法的建立[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(8): 617-622.

[4] Wallace AM, Gibson S, de la Hunty A, et al. Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations [J]. Steroids, 2010, 75(7): 477-488.

[5] Umar N, Tauseef A, Shahzad F, et al. Serum 25-Hydroxy vitamin D level in preeclamptic and normotensive pregnancies[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2016, 26(8): 673-676.

[6] Geng SS, Ma JQ, Liu SS, et al. Vitamin D insufficiency and its association with biochemical and anthropometric variables of young children in rural southwestern China [J]. Chin Med J (Engl), 2016, 129(11): 1273-1279.

[7] Schlereth F, Badenhop K. Vitamin D; more than just a bone hormone[J]. Internist, 2016, 57(7): 646-655.

[8] Pilz S, Verheyen N, Grübler MR, et al. Vitamin D and car-

diovascular disease prevention[J]. Nat Rev Cardiol, 2016, 13(7):404-417.

[9] El-Khoury JM, Reineks EZ, Wang S. Progress of liquid chromatography-mass spectrometry in measurement of vitamin D metabolites and analogues[J]. Clin Biochem, 2011, 44(1):66-76.

[10] Zerwekh JE. Blood biomarkers of vitamin D status[J]. Am J Clin Nutr, 2008, 87(4):1087-1091.

[11] Wang S. Epidemiology of vitamin D in health and disease [J]. Nutr Res Rev, 2009, 22(2):188-203.

[12] Shin SY, Kwon MJ, Song J, et al. Measurement of serum total vitamin D (25-OH) using automated immunoassay in comparison with liquid chromatography tandem-mass spectrometry[J]. J Clin Lab Anal, 2013, 27(4):284-289.

(收稿日期:2016-10-10 修回日期:2016-12-23)

• 临床研究 •

HPV 和 TCT 联合检测在宫颈癌筛查中的价值

成守金, 许贺春

(焦作煤业(集团)有限责任公司中央医院检验科, 河南 454000)

摘要:目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)和液基薄层细胞检查(TCT)联合检测在宫颈病变中的作用,为宫颈癌的预防提供参考。**方法** 对1 996例女性宫颈脱落细胞进行TCT及HPV基因型别进行检测,包括19种高危型(16、18、26、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、84)和5种低危型(6、11、42、43、44)。**结果** 在1 996例标本中,HPV检出率为33.32%(665/1 996),高危型占82.11%(546/665)。在546例HPV高危型别感染中,共检出14种基因型,分别为16型(24.87%)、58型(16.58%)、18型(10.88%)、52型(8.55%)、56型(8.29%),33型、68型各占5.44%、31型(3.63%)、66型(3.63%)、35型(3.11%)、59型(2.59%)、84型(2.59%)、53型(2.33%)、45型(2.07%)。在665例HPV感染中,单个基因型别占65.72%(457/665),混合感染占34.28%(208/665)。在1 996例标本中,TCT阳性率23.60%(471/1 996),其中高危型HPV感染占91.30%(430/471);低危型HPV感染占5.52%(26/471);在1 525例TCT阴性患者中,HPV感染209例,其中高危型感染116例;1 331例HPV阴性病例中TCT阳性率1.12%(15/1 525)。不同年龄组间HPV及TCT检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。高危型感染及TCT阳性在 >60 岁年龄组检出率最高,低危型HPV感染在 <30 岁年龄组检出率较高。**结论** HPV和TCT联合检测在宫颈病变中具有重要作用,应进行定期检测,预防宫颈癌的发生。

关键词:人乳头瘤病毒; 宫颈癌; 液基薄层细胞检查; 高危型
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.06.049 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)06-0848-03

宫颈癌是女性常见肿瘤,近年来发病率逐年增加并呈年轻化趋势,已经成为女性第二大恶性肿瘤,严重威胁着女性的身体健康。长期以来,液基薄层细胞学检查(TCT)作为宫颈癌的筛查手段被临床广泛采用,但因其灵敏度低及假阴性率高的原因限制了它的应用。已有的研究已经证实:持续的高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌的首要病因,95%~99.7%的宫颈癌患者可以检出HPV^[1]。为了探讨TCT及HPV联合检测在宫颈病变中的作用,本课题组对1 996例妇科门诊患者进行了TCT及HPV基因分型检测,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015年5月至2016年5月在焦煤中央医院妇科门诊就诊的患者1 996例,年龄最小20岁,最大76岁,平均(45.6±8.6),均有性生活史。

1.2 宫颈癌诊断标准 参照第8版《妇产科学》教材^[2]

1.3 方法

1.3.1 标本采集 取材:先用棉拭子将宫颈口黏液擦去,然后用一次性宫颈刷取宫颈分泌物,放于密闭保存管中送检。不能立即检测的,放置于4~8℃冰箱保存,保存时间不超过72 h。

1.3.2 TCT检测 采用美国Cutye公司的新柏氏TCT技术进行检测。细胞学诊断采用2001年TBS分类系统,由两位以上病理科专家判读。

1.3.3 HPV检测 采用凯普杂交仪器进行扩增,用珠海赛乐奇生物技术有限公司提供的基因芯片检测HPV的24种基因型,包括19种高危型(16、18、26、31、33、35、39、45、51、52、53、

56、58、59、66、68、73、82、84)和5种低危型(6、11、42、43、44)

1.4 统计学处理 用SPSS19.0软件建立数据库,计数资料以百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV检测结果 在1 996例标本中,HPV感染665例,占33.32%(665/1 996);其中低危型119例,占17.89%(119/665);高危型546例,占82.11%(546/665)。在665例HPV感染中,单个基因型别457例,占65.72%(457/665),混合感染208例,占34.28%(208/665)。

2.2 TCT检测结果及TCT阴性患者HPV检测结果 在1 996例标本中,TCT阳性471例,占23.60%(471/1 996)。其中高危型HPV感染430例,检出率为91.30%(430/471);低危型HPV感染阳性26例,检出率为5.52%(26/471);1 331例HPV阴性病例中TCT阳性15例,检出率为1.12%(15/1 331)。不同型别HPV感染TCT检出阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。在TCT阴性患者中,检出HPV感染209例,其中高危型感染116例、低危型感染93例。HPV和TCT联合检测,阳性率为44.54%(889/1 996),与HPV和TCT单项检测的阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 546例HPV高危型基因型别分布情况 在546例HPV高危型别感染中,共检出14种基因型,依次是16型(24.87%)、58型(16.58%)、18型(10.88%)、52型(8.55%)、56型(8.29%)、33型和68型(各占5.44%)、31型和66型(各