

• 短篇论著 •

均相酶免疫法测定 24 h 尿液香草苦杏仁酸在嗜铬细胞瘤中的应用与性能评估

胡玉皎, 张莹, 程晓东, 周铁成, 郝晓柯[△]

(空军军医大学西京医院全军临床检验中心, 西安 710032)

摘要:目的 探讨均相酶免疫法检测 24 h 尿液香草苦杏仁酸(VMA)水平的性能参数,评估该方法在嗜铬细胞瘤诊断、原发性高血压中的应用。方法 建立 24 h 尿 VMA 水平的均相酶免疫检测方法,分别用均相酶免疫法和手工法同时检测嗜铬细胞瘤组($n=34$)、原发性高血压组($n=40$)、健康对照组($n=20$)24 h 尿 VMA 水平。结果 该方法重复性、正确度、线性范围、临床可报告范围均达到说明书所标识;灵敏度 97.1%,特异度 95.0%。均相酶免疫法和传统手工法两种方法呈正相关($r=0.85$, $P=0.135$)。均相酶免疫法检测嗜铬细胞瘤组 24 h 尿液 VMA 水平明显高于原发性高血压组、健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);原发性高血压组与健康对照组差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 均相酶免疫法检测 24 h 尿液 VMA 各项性能指标均符合临床要求,可改善检验科的工作模式,提高检测方法的灵敏度和特异度,为患者提供更为快速准确的检测结果。

关键词:嗜铬细胞瘤; 24 小时尿液香草苦杏仁酸; 均相酶免疫法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.031

中图法分类号:R739.4

文章编号:1673-4130(2018)21-2574-04

文献标识码:B

高血压是最常见的慢性病,也是心脑血管疾病的主要危险因素。嗜铬细胞瘤可因长期高血压导致严重的心、脑、肾损害或因突发严重高血压危及生命^[1],因其与原发性高血压临床症状极易混淆,且如能早期诊断、及时治疗,多数是可治愈的继发性高血压病,故而对阵发性或持续性高血压和代谢紊乱者,应明确诊断。研究表明,采用检测 24 h 尿液香草苦杏仁酸(3-甲氧-4-羟苦杏仁酸,VMA)水平有助于确诊是否为功能性肾上腺肿瘤或由肾上腺肿瘤引起的继发性高血压^[2]。检验科 24 h 尿 VMA 水平在 VMA 提取与测定上多采用全国临床检验操作规程所推荐的重氮化对硝苯胺显色法和分光光度法^[3],手工方法过程烦琐、费时费力且难以排除不同工作人员手工操作引入的误差,本文旨在评价仪器法试剂盒性能,探讨全自动生化仪均相酶免疫法与手工方法的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2017 年 7—11 月 24 h 尿液 VMA 标本 94 例,其中明确诊断嗜铬细胞瘤 34 例,男 19 例,平均年龄(41.0 ± 7.9)岁;女 15 例,平均年龄(39.0 ± 6.6)岁。明确诊断原发性高血压 40 例,男 18 例,平均年龄(52.0 ± 8.4)岁;女 22 例,平均年龄(55.0 ± 9.3)岁。健康对照组 20 例,男 10 例,平均年龄(39.0 ± 5.4)岁;女 10 例,平均年龄(34.0 ± 4.9)岁。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 均相酶免疫法 仪器:日立 7600 全自动生化

分析仪。试剂:VMA 均相酶免疫法检测试剂盒(苏州博源医疗科技有限公司)。

1.2.2 手工方法 仪器:紫外分光光度计(背景普析通用仪器有限责任公司)。试剂:浓盐酸、乙酸乙酯、碳酸钾、氢氧化钠、三氯甲烷(天津富宇精细化工有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 重复性试验 批内精密度:分别重复测定 2 个水平的质控品 20 次,评估每个水平样本的批内精密度。日间精密度:每天测定 2 个水平的伯乐质控品 1 批次,重复 20 d,评估每个水平样本的批间精密度。

1.3.2 正确度试验 测定 3 个不同水平的标准品,重复测定 2 次。分别计算检测结果均值与靶值间的偏倚。

1.3.3 线性范围 检测低限:选择 VMA 低水平样本,根据检测系统说明书中线性范围的下限将样本稀释至下限水平或更低水平,对不同倍数稀释样本连续测定 5 次,收集实验数据进行统计分析,计算均值(\bar{x})和标准差(SD)。检测高线性范围:选择 VMA 高值样本,按照 4L+H、3L+2H、2L+3H、L+4H、H 的比例进行稀释(L 为生理盐水,H 为高值样本)。检测稀释后的样本,每个样本重复测定 3 次,收集实验数据进行统计分析,分别计算稀释后各水平的平均值,将平均值与理论值引入线性回归方程,计算相关系数(r)。

1.3.4 最大稀释倍数 选择 VMA 高值样本,用生

[△] 通信作者, E-mail: haoxkg@fmmu.edu.cn.

理盐水分别稀释 0、2、5 倍,每个稀释后的样本,重复检测 2 次,将各水平样本的平均值与理论值比较,计算其偏倚。

1.3.5 可报告范围 通过验证线性范围与最大稀释倍数计算可报告范围。

1.3.6 与手工方法的对比 选择明确诊断嗜铬细胞瘤的患者、原发性高血压患者、体检健康者(健康对照),用传统手工方法和均相酶免疫法同时测定 3 组受检者 24 h 尿液 VMA 水平,分别计算 24 h 尿液 VMA 水平与 24 h 尿液总量的乘积,将数据进行统计分析。

1.4 统计学处理 收集、记录各组数据,采用 SPSS16.0 软件进行统计分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm SD$ 表示,组间比较用 t 检验,方法间相关性用 Pearson 相关性分析,计数资料以率表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 重复性试验结果 高、低 2 个水平质控品的批内精密度和日间精密度见表 1、2。批内精密度以变异系数(CV)不超过 10%作为判断标准,低值和高值质控品批内精密度验证均通过;日间精密度以 CV 不超过 15%作为判断标准,低值和高值质控品日间精密度验证均通过。

2.2 正确度试验 3 个不同水平标准品的偏倚见表 3,以允许偏倚 12.5%为判断标准,该检测方法正确度符合要求。

2.3 线性范围

表 1 高、低水平质控品批内精密度

质控品	\bar{x} (mg/L)	SD(mg/L)	CV(%)
低水平	10.31	0.52	5.04
高水平	87.38	4.22	4.83

表 2 高、低水平质控品日间精密度

质控品	\bar{x} (mg/L)	SD(mg/L)	CV(%)
低水平	10.96	0.68	6.20
高水平	86.21	5.07	5.88

表 3 不同水平标准品偏倚(mg/L)

标准品	理论值	实测值		\bar{x}	偏倚(%)
		1	2		
S1	6.4	6.5	6.1	6.3	-1.6
S2	40.0	38.7	38.9	38.8	-3.0
S3	100.0	100.5	97.6	99.1	-1.0

2.3.1 检测低限 选择 8.0 mg/L 水平尿液标本稀释 2、4、6 倍,见表 4。以 $\bar{x} \pm 3SD$ 为范围,不同水平的稀释样本 $\bar{x} - 3SD$ 与蒸馏水空白 $\bar{x} + 3SD$ 进行比较,前者大于后者对应的水平值为检测低限。4 倍稀释后理论水平为 2.0 mg/L,该水平处于检测方法的线性范围内。

表 4 线性范围检测低限

稀释倍数	检测值(mg/L)					\bar{x}	SD	稀释样本 $\bar{x} - 3SD$	蒸馏水 $\bar{x} + 3SD$
	1	2	3	4	5				
0	7.61	7.94	8.02	8.21	7.83	7.92	0.22	7.25	—
2	4.22	4.42	3.95	4.21	4.24	4.21	0.17	3.70	—
4	2.08	2.20	2.36	1.97	2.11	2.14	0.15	1.71	—
6	1.89	1.87	1.92	1.60	1.04	1.66	0.37	0.55	—
蒸馏水	1.34	1.08	1.15	0.92	1.27	1.15	0.16	—	1.65

注:—表示无数据

表 5 线性范围检测高限(mg/L)

稀释比例	检测值		\bar{x}	理论值	偏倚(%)
	1	2			
4L+1H	22.9	24.9	23.9	22.0	8.6
3L+2H	47.2	48.0	47.6	44.0	8.2
2L+3H	73.6	70.6	72.1	66.0	9.2
1L+4H	94.4	91.7	93.1	88.0	5.7
H	108.5	108.6	108.6	110.0	-1.3

2.3.2 检测高线 按比例梯度稀释,见表 5。以 $R^2 \geq 0.95, 1.10 \geq \text{斜率}(a) \geq 0.90$ 为通过标准,本检测方法在 ≤ 110.0 mg/L 范围内呈线性,见图 1。24 h 尿

VMA 水平均相酶免疫法检测法在 2.0~110.0 mg/L 范围内呈线性相关。

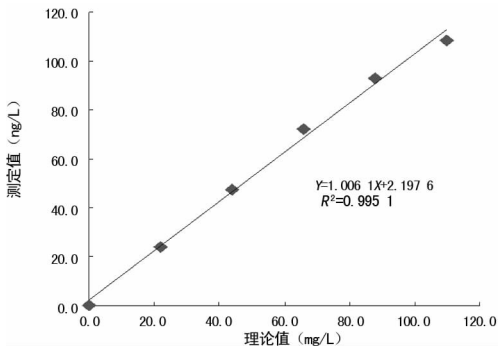


图 1 线性范围检测高限

2.4 最大稀释倍数 按比例稀释后检测结果见表 6, 以允许偏倚不超过 12.5% 为判断标准, 本检测方法最大稀释倍数为 5 倍。

表 6 最大稀释倍数 (mg/L)					
稀释倍数	检测值		均值	理论值	偏倚 (%)
	1	2			
0	104.9	102.6	103.8	100.3	3.4
2	49.1	46.3	47.7	50.2	-5.0
5	23.2	21.5	21.9	20.1	11.2
10	8.7	8.2	8.6	10.0	-15.5

2.5 临床可报告范围 由线性范围和最大稀释倍数计算可得该项目临床可报告范围是 2.0~550.0 mg/L。

2.6 均相酶免疫法在嗜铬细胞瘤诊断中的应用

2.6.1 均相酶免疫法与传统手工方法比较 用均相酶免疫法与传统手工方法同时检测疑似嗜铬细胞瘤组、原发性高血压组、健康对照组。结果表明, 均相酶免疫法与传统手工方法具有相关性 ($r=0.864$, $P=0.007$)。均相酶免疫法灵敏度 97.1%, 特异度 95.0%, 传统手工方法灵敏度 94.1%, 特异度 86.7%, 因此, 均相酶免疫法较传统手工法提高了灵敏度和特异度。

2.6.2 嗜铬细胞瘤组与对照组 24 h 尿 VMA 水平比较 均相酶免疫法检测嗜铬细胞瘤组患者 24 h 尿 VMA 水平 (24.3 mg/24 h) 显著高于原发性高血压组 (6.8 mg/24 h) 和健康对照组 (6.4 mg/24 h), 差异均有统计学意义 ($P=0.012$, 0.009)。

3 讨 论

嗜铬细胞瘤与原发性高血压的临床症状极易混淆, 且嗜铬细胞瘤引起的继发性高血压导致的心脑血管、肾脏等靶器官损伤比原发性高血压更为严重^[4-5]。但如能早期诊断、及时治疗, 多数是可治愈的继发性高血压病, 所以明确诊断嗜铬细胞瘤引起的继发性血压升高对于患者的治疗方案至关重要^[6]。临床上, 因嗜铬细胞瘤发病率较低, 在高血压患者中仅占 0.1%~0.6%, 所以常常被忽略。目前, 肾上腺嗜铬细胞瘤患者常通过定性诊断检验和定位诊断检查得以确诊^[7]。影像学 CT 是目前首选的定位检查手段, 其诊断肾上腺内嗜铬细胞瘤的灵敏度高, 但特异度较差; 而且对于肾上腺外嗜铬细胞瘤, 如腹腔内小而分散的肿瘤不易与肠腔的断面相区分, 再如颈部、胸腔等特殊部位的肿瘤可能未被关注, 因此, 定位检查有可能漏诊^[8-9]。孙志霞等^[10]研究指出, 由于不同病理类型的肾上腺肿瘤声像图特异度差, 超声检查对肾上腺肿瘤的定性诊断符合率较低。

VMA 是肾上腺素和去甲肾上腺素的代谢产物, 主要从尿中排出, 进行体内儿茶酚胺及其代谢物检测

是嗜铬细胞瘤定性诊断的特异性方法^[11-12]。血液及尿液儿茶酚胺水平极微, 临床检验科实验室的常规方法和仪器不能满足临床需求^[13-14]; 且血液儿茶酚胺水平仅能反映抽血即时的儿茶酚胺水平, 而该指标又会受到环境、情绪、运动等诸多因素影响, 故抽血时血液儿茶酚胺水平并非一定是受检者的真实水平^[15]。此外, 除住院患者外, 其余嗜铬细胞瘤患者在一过性或阵发性高血压发作时并不能及时抽血送检, 故发作期 24 h 尿中儿茶酚胺水平测定的诊断价值比即时外周血儿茶酚胺水平更有意义。

在原发性高血压患者组和健康对照组中, 传统手工方法测定 24 h 尿 VMA 水平时出现了 3 例假阳性结果, 分析其原因, 可能为 3 例患者 24 h 尿量偏多, 分别为 6 600、6 450、6 100 mL, 虽 3 位受检者尿液中儿茶酚胺代谢产物总量理论应在正常范围内, 但由于总尿量大, 单位体积内的水平较低, 超过了检测下限, 所测水平并非为真实水平, 所以导致计算结果不准确, 出现假阳性。传统的 VMA 手工检测法虽为经典方法, 但是整个操作过程繁杂、耗时较长, 手工操作引入的人为误差在所难免, 且无法实现大批量标本快速检测。

4 结 论

均相酶免疫法试剂盒各项指标达到其说明书所示、各项性能可满足临床所需; 采用全自动生化分析仪测定 24 h 尿 VMA 水平, 可减少人为误差、提高灵敏度和特异度, 并且能缩短样本检测周期, 更加准确、方便、快捷地为临床、为患者服务。本次实验因病例资料有限, 仍存在一些不足, 后续工作中还需继续收集临床病例信息, 跟踪患者治疗情况, 进一步验证该方法的临床诊断效能。

参考文献

[1] ZELINKA T, EISENHOFER G, PACAK K. Pheochromocytoma as a catecholamine producing tumor: implications for clinical practice[J]. Stress, 2007, 10(2): 195-203.

[2] 王青. 儿茶酚胺类物质在高血压性疾病诊疗中应用[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(11): 1058-1059.

[3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 440-473.

[4] 张炜, 汤正义, 王卫庆, 等. 肾上腺意外瘤中亚临床库欣综合征临床研究[J]. 中国实用内科杂志(临床版), 2006, 26(7): 516-518.

[5] 丁莉. 嗜铬细胞瘤患者心血管表现的临床研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.

[6] 王鸿懿. 继发性高血压的筛查思路[J]. 临床荟萃, 2015, 30(11): 1202-1205.

[7] 陈霞, 向明, 李宁, 等. 超声在肾上腺嗜铬细胞瘤诊断中的应用[J]. 中国超声诊断杂志, 2005, 6(3): 188-189.

[8] 费励敏, 郭俊俊. 彩色多普勒超声在肾上腺肿瘤诊断中的

- 应用 68 例分析[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(27): 6717.
- [9] 林振湖, 林礼务, 薛恩生, 等. 彩色多普勒超声对肾上腺肿瘤的的诊断价值[J]. 中华医学超声杂志, 2006, 3(6): 399-341.
- [10] 孙志霞, 乔锋利, 杨艳艳, 等. 彩色多普勒超声和 CT 检查对肾上腺肿瘤诊断价值的比较[J]. 吉林大学学报(医学版), 2010, 36(1): 198-200.
- [11] 甘志彪, 陈佐伟, 杨东, 等. 尿液中香草杏仁酸测定的应用探讨[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(7): 1264-1267.
- [12] 彭婕, 方芸. 内源性儿茶酚胺的测定在嗜铬细胞瘤诊断中的应用[J]. 药学与临床研究. 2010, 18(4): 366-368.
- [13] 陈智, 刘继红. 肾上腺髓质嗜铬细胞分泌儿茶酚胺的研究进展[J]. 国外医学(泌尿系统分册), 2003, 23(1): 61-64.
- [14] 李明, 宋爱玲, 陈适, 等. 两种提取方法在尿儿茶酚胺测定中的应用比较[J]. 临床和实验医学杂志. 2011, 10(11): 844-845.
- [15] 武成刚. 应激刺激对机体下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴激素变化的研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2011.
- 短篇论著 •

(收稿日期: 2018-01-04 修回日期: 2018-04-10)

PDCA 循环在提高血常规异常形态学检出率中的应用

李娟, 汤荣睿[△], 王丹枫, 冉华丽, 易小翠

(重庆市沙坪坝区人民医院医学检验科, 重庆 400030)

摘要:目的 探究 PDCA 循环管理模式在提高血常规异常形态学检出率中的应用效果。方法 分别统计该院检验科实施 PDCA 循环管理模式前后各 1 400 例血常规中检出异常形态学的报告数, 并收集相应血常规标本各 1 400 例, 全部进行显微镜复检, 计算 PDCA 循环管理模式实施前后血常规异常形态学检出率。结果 实施 PDCA 循环管理模式前血常规异常形态学检出率仅为 49.6%, 实施后检出率为 88.5%, 实施前后血常规异常形态学检出率对比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 采用 PDCA 循环管理模式, 该院检验科对血常规复检规则进行了调整(假阴性率 $< 5\%$), 优化了检验科工作流程, 血常规异常形态学检出率明显提高。

关键词: PDCA 循环; 形态学; 显微镜检查; 检出率

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.032

中图法分类号: R446.11+1

文章编号: 1673-4130(2018)20-2577-03

文献标识码: B

PDCA 循环又叫戴明环, 是美国质量管理专家戴明博士根据客观规律首先提出的, 其主要包括计划(Plan, P)、实施(Do, D)、检查(Check, C)、处理(Action, A)4 个阶段, 是广泛应用于各领域质量管理标准化、科学化、规范化循环体系, 实现质量管理的持续改进^[1-3]。近年来, 外周血细胞分析仪因为操作简便、检测快捷、工作效率高而被各大小实验室所采用, 虽然自动化血细胞分析仪提高了工作效率和检验质量, 同时为临床提供了更多、更好的科学参数, 但这类仪器在鉴别血细胞形态和内部结构方面仍不够完善^[4-6]。因此, 在利用血细胞分析仪进行血常规检验的同时, 辅以外周血细胞的形态学镜检可为患者疾病的诊断以及确诊提供十分可靠的理论依据, 有助于患者进一步的临床治疗, 使得检验可以更好地服务于临床^[7]。本科室于 2016 年 4 月开始采用 PDCA 循环管理理论, 经过科学化、规范化管理, 使本科血常规异常形态学检出率得到有效提高。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取开展 PDCA 循环前(2016 年 4

月 25 日至 2016 年 5 月 1 日)和开展 PDCA 循环后(2016 年 10 月 25 日至 2016 年 11 月 1 日)本院检验科的 1 400 例血常规标本。

1.2 方法 将 PDCA 循环体系应用于血常规形态学检查的每一个步骤, 对出现的问题及时分析处理, 采取相应改进措施, 并将收集的数据进行分析和评价。

1.2.1 计划阶段 统计开展 PDCA 循环前本院检验科 1400 例血常规中检出异常形态学的报告数, 并收集相应的 1 400 例血常规标本, 全部进行显微镜复检, 再次统计其真阳性例数(血常规异常形态学报告与显微镜复检均阳性则为真阳性)和假阴性例数(血常规异常形态学报告阴性, 但显微镜复检阳性则为假阴性^[8]), 计算检出率: 检出率 = 真阳性 / (真阳性 + 假阴性) $\times 100\%$ 。运用人、机、料、法、环分析法进行了调查分析^[9]。本院血常规异常形态学检出率低的原因主要有以下几个方面: (1)复检规则不完善, 假阴性率高; (2)科室培训、考核不到位, 临检人员形态学识别能力不足, 形态学正确识别符合率低; (3)临检室复片岗工作人员不足, 对已触及复检规则的标本未执行复

[△] 通信作者, E-mail: 329827677@qq.com。