

结果相关性研究[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(6): 619-620.

[2] 张玲, 黄俊, 黄杰, 等. 联合检测尿总蛋白和尿微量清蛋白的意义初探[J]. 四川省卫生管理干部学院院报, 2002, 21(1): 9-10.

[3] LARRENCE G M, BREWER D B. Normal urinary protein composition in the female wistar rat and its relationship to the proteinuria induced by intraperitoneal bovine albumin[J]. Clin Sci (Lond), 1981, 60(6): 693-702.

[4] 张亚莉, 高伟, 郝大鹏, 等. 尿蛋白定量在肾病综合征诊断中的意义[J]. 中国综合临床, 2012, 28(2): 192-194.

[5] LE BRICON T. Laboratory identification and measurement of urinary proteins[J]. Ann Biol Clin (Paris), 2002, 60(5): 525-540.

[6] 张小玲, 杨丽媛, 谭晓明, 等. 尿蛋白电泳在小儿肾病诊断中的应用价值[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(2): 279-281.

[7] 周樱, 赵江燕, 钱厚明, 等. 非浓缩尿蛋白电泳、尿微量清蛋白和尿蛋白联合检测对糖尿病早起肾损伤的诊断意义[J]. 检验医学与临床, 2006, 3(9): 437-438.

[8] LE BRICON T, ERLICH D, BENGOUFA D, et al. Sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis of urinary proteins; application to multiple myeloma[J]. Clin Chem, 1998, 44(6 Pt 1): 1191-1197.

[9] 邵东泉. 尿蛋白电泳在蛋白尿中的临床应用[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(9): 2365-2366.

[10] COHEN S M, OHNISHI T, CLARK N M, et al. Investigations of rodent urinary bladder carcinogens: collection, processing, and evaluation of urine and bladders[J]. Toxicol Pathol, 2007, 35(3): 337-347.

[11] 葛玲, 王先侠, 吴信宏. 93 例肾脏疾病患者 SDS-AGE 非浓缩尿蛋白电泳分析[J]. 临床输血与检验, 2013, 15(3): 216-218.

[12] 栗群英, 徐万清, 龚阳彬, 等. 非浓缩尿蛋白电泳在肾脏疾病诊断中的临床应用[J]. 西南军医, 2007, 9(6): 59-60.

[13] 孔宪涛. 肾脏疾病免疫学诊断方法的研究与应用[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(5): 261-262.

[14] 吴宇芳, 关晓东. 肾脏病患者尿蛋白电泳测定及其病理活检对比分析[J]. 现代预防医学, 2007, 34(4): 873-874.

(收稿日期: 2018-04-26 修回日期: 2018-07-28)

• 短篇论著 •

血清样本的保存条件对 ELISA 法检测封闭抗体结果的影响

简少珍, 吴 英[△]

(广东省佛山市中医院检验医学中心, 广东佛山 528000)

摘要:目的 分析不同条件下保存血清样本对酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测封闭抗体结果的影响。方法 收集 2016 年 3 月至 2017 年 3 月就诊于该院妇科的 264 例正常早孕和初孕妇女为研究对象, 采集其血清样本, 依据不同保存时间和温度分为 4℃ 保存 1 周(1 周组)、-20℃ 保存 1 个月(1 月组)、-20℃ 保存 3 个月(3 月组)、-20℃ 保存 6 个月(6 月组)共 4 组, 应用 ELISA 法检测封闭抗体。结果 各组 BA 阳性检出率分别为 48.9%(129 例)、51.1%(135 例)、51.8%(137 例)、53.4%(141 例), 其总体差异无统计学意义($\chi^2=1.137, P=0.768>0.05$)。1 月组、3 月组和 6 月组分别与对照组定性结果一致性比较, 其 Kappa 系数分别为 0.955、0.909、0.864, 一致性程度均为极强(K 值>0.8)。各组 BA 定量结果的秩均值分别为 1.77、2.37、2.51、2.84, 其总体差异有统计学意义($\chi^2=217.129, P<0.001$); 1 月组、3 月组、6 月组各组分别与 1 周组比较, 其差异均有统计学意义($Z=-5.946, -4.996, -4.903, P<0.001$); 3 月组和 6 月组分别与 1 月组定量结果比较, 其差异有统计学意义($Z=-7.892, -8.456, P<0.001$); 3 月组与 6 月组定量结果比较, 差异无统计学意义($Z=-1.075, P=0.282>0.008$)。结论 在实际工作中, 应用 ELISA 法定量检测 BA 时应尽可能在 1 周内完成, 如不能及时检测, 应在 1 个月内检测完毕; 对于定性检测, 于 -20℃ 保存 6 个月可保持结果的稳定。

关键词: 抗体, 封闭; 低温保存; 时间; 酶联免疫吸附试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.037 中图法分类号: R446.6; R197.39

文章编号: 1673-4130(2018)23-2985-03 文献标识码: B

妊娠是成功的半同种器官移植^[1]。然而现代女性由于各种因素的影响, 导致无法正常妊娠, 出现自然流产越来越多见。自然流产的病因复杂, 约半数的患者找不到明确的病因, 且不明原因者多数为免疫因素, 其中封闭抗体(BA)越来越受到关注, BA 具有保

护胎儿宫内不受外界因素干扰的作用^[2]。母体能正常维持妊娠, 与母体免疫耐受及其他免疫调节作用有直接关系。免疫调节作用之一就是特异性抗体的封闭效应, 即 BA^[3-4]。2015 年有研究报道不同育龄妇女人群中血清 BA 的检测结果, 该研究认为育龄期妇女

[△] 通信作者, E-mail: ddzz118@126.com.

本文引用格式: 简少珍, 吴英. 血清样本的保存条件对 ELISA 法检测封闭抗体结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(23): 2985-2986.

的血清与复发性流产密切相关^[5]。因此,育龄期妇女应积极检测 BA,做到提前预防和治疗,以提高育龄期妇女的妊娠率^[6]。对复发性流产的病因进行分析,从中医学角度认为是脾肾亏虚、气血失常、冲任不固等^[7]。而有研究认为,主动免疫治疗复发性流产效果较好,在提高体内 BA 水平的同时可提高妊娠率^[8]。中西药结合治疗方式也能提高其妊娠成功率,减少免疫治疗中产生的不良反应^[9]。

BA 的检测易受许多因素干扰,直接影响实验结果的准确性。医院检验科在同一实验室外部环境设备等基本相同的情况下,由于每一个临床科室采集的标本数量不同,部分标本由于未及时进行检测,需要离心后保存,因此,临床上对于标本保存的温度及保存的时间尚存在较大争议^[10]。在实际工作中,因标本数量、日程安排和科研课题等工作需要,常需将标本存放于冰箱一段时间再进行集中检测,所以,对实验室保存条件的控制显得非常重要。酶联免疫吸附试验(ELISA)法作为检测 BA 的通用方法,目前研究其血清样本在不同保存条件下检测结果稳定性的报道相对少见。本研究探讨血清样本在不同保存条件下,应用 ELISA 法检测 BA 结果的稳定性,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 3 月至 2017 年 3 月就疹于本院妇科的 264 例正常早孕和初孕妇女为研究对象。受试对象均为首次自然怀孕,年龄(21.24±2.88)岁,妊娠(10.80±4.41)周,B 超提示正常宫内活胎,经临床分析无任何非生理性不良反应和表现。

1.2 仪器与试剂 应用瑞典 TECAN 公司生产的 Freedom Evolyzer-2150 型全自动酶联免疫分析仪进行 BA 自动检测。采用美国 B&D System 公司生产的 96T ELISA 酶联免疫试剂盒(双抗体夹心法);试剂和标准品均为同一批号。标准品共 5 支,浓度分别为 7.5、15.0、30.0、60.0、120.0 ng/L。

1.3 方法

1.3.1 分组 采用无抗凝剂密闭真空管空腹时采血 5 mL,按要求离心分离血清后分为 4 份。1 份于 4℃ 保存,在 1 周内检测完毕(1 周组);另 3 份于-20℃ 保存,分别于 1 个月(1 月组)、3 个月(3 月组)、6 个月(6 月组)时检测。

1.3.2 检测方法 在酶标板孔中加入 5 个标准品和血清样本,37℃ 孵育 30 min 后洗板,加酶标记物后再次 37℃ 孵育 30 min,洗板后加入底物和显色剂 10 min,最后加入终止液读数。按说明书要求,计算定性结果的临界值(cut off),样本所测得的光密度(A 值)>cut off 判定为阳性(cut off=0.211,>0.211 为阳性),否则为阴性。依据标准品作 A 值与浓度的标准曲线,利用标准曲线计算各样本的定量结果。

1.4 统计学处理 以 Excel2003 记录各组资料;应用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,计数资料以[n

(%)]表示,以 χ^2 检验分析定性结果的总体差异,以非参数检验分析定量结果的差异,以 Kappa 检验判断各组定性结果的一致性;以 $\alpha=0.05$ 为统计阈值,组间两两比较时对 α 进行校正,以 $\alpha'=\alpha/(C_n^2/2)=0.008$ 为统计阈值。

2 结果

2.1 不同保存时间对检测结果的影响 以 χ^2 检验比较 4 组定性结果的差异,1 周组、1 月组、3 月组和 6 月组 BA 阳性率分别为 48.9%、51.1%、51.9%、53.4%,其总体差异无统计学意义($\chi^2=1.137,P=0.768,P>0.05$)。见表 1。

2.2 以非参数检验分析定量结果的差异 1 周组、1 月组、3 月组和 6 月组 BA 定量结果的秩均值分别是 1.77、2.37、2.51、2.84,其总体差异有统计学意义($\chi^2=217.129,P<0.001$)。秩均值随着保存时间的延长,呈增高趋势。见表 1。

2.3 Kappa 检验判断各组定性结果的一致性 1 月组、3 月组和 6 月组分别与 1 周组定性结果比较,K 值分别为 0.955、0.909、0.864,一致性程度均为极强。见表 2。

表 1 不同保存时间对检测结果的影响(n=264)

| 组别 | BA 定性 | | BA 定量(ng/L) | | |
|------------|-------|--------|-------------|-------|---------|
| | 阳性例数 | 阳性率(%) | 秩均值 | 最小值 | 最大值 |
| 1 周组(4℃) | 129 | 48.9 | 1.77 | 2.546 | 137.552 |
| 1 月组(-20℃) | 135 | 51.1 | 2.37 | 3.222 | 138.269 |
| 3 月组(-20℃) | 137 | 51.9 | 2.51 | 3.564 | 140.562 |
| 6 月组(-20℃) | 141 | 53.4 | 2.84 | 4.092 | 142.260 |

注:cut off=0.211,>0.211 为阳性

表 2 BA 1 周组与 1、3、6 月组定性结果分析
[n=264,n(%)]

| 组别 | 1 周组 | | K 值 |
|------|-----------|-----------|-------|
| | 阳性 | 阴性 | |
| 1 月组 | | | |
| 阳性 | 129(48.9) | 6(2.3) | 0.955 |
| 阴性 | 0(0.0) | 129(48.9) | |
| 3 月组 | | | |
| 阳性 | 127(48.1) | 10(3.8) | 0.909 |
| 阴性 | 2(0.8) | 125(47.3) | |
| 6 月组 | | | |
| 阳性 | 126(47.7) | 15(5.7) | 0.864 |
| 阴性 | 3(1.1) | 120(45.5) | |
| 合计 | 129 | 135 | — |

2.4 定量结果两两比较分析 1 月组、3 月组和 6 月组分别与 1 周组定量结果比较,其差异均有统计学意义($Z=-5.946$ 、 -4.996 、 $-4.903,P<0.001$);3 月组和 6 月组分别与 1 月组定量结果进行比较,其差异有统计学意义($Z=-7.892$ 、 $-8.456,P<0.001$);3 月组与 6 月组定量结果进行比较,其差异无统计学意义($Z=-1.075,P=0.282$)。见表 3。(下转封 3)