

允许范围,则进行下一步。(4)用新的校准液重新校准,排除校准液的原因,重测失控项目,如仍不在允许范围,请专家帮助解决^[2]。

2 结 果

通过长时间的使用观察,用此种质控物通过室内累积所确定的质控靶值和标准差绘制的室内 L-J 质控图,和已知的有参考靶值的定值质控血清所绘制的室内 L-J 质控图使用同样良好。

3 讨 论

3.1 在质控血清的正常使用过程中,有时会出现 HDL 和 LDL 漂移和失控的情况,经查找原因,主要有以下几方面:(1)分装体积少,造成结果失控。(2)新融化的质控物和已用过的质控物混合使用。(3)质控血清融化后没有轻轻混匀,造成血清中的成分分布不均。(4)不是室温复融,而是恒温水浴箱溶解或长时间放置。(5)新批号的试剂没有校准。(6)不同批号的试剂混合使用。(7)仪器没有及时保养造成吸光度异常。造成上述室内质控漂移和失控的主要原因在于:没有按照正规的操作程序对质控物和试剂进行操作;部分工作人员无质控的概念,只想早出结果,忽略了室内质控的重要性;平时不注重对仪器的保养维护。经对症处理后,上述情况没有出现。

3.2 定值项目的质控血清有相对的参考数值,根据定值作为参考数值,测量确定自己室内的质控靶值和标准差,绘制室内

L-J 质控图;而对于无 HDL 和 LDL 的质控血清由于无相应参考值,根据同批号的血清质控物的成分相对稳定这一特性,在实际工作中,以此质控物质作为非定值的质控物,按照室内质控图的正常操作程序,确定 HDL 和 LDL 的质控靶值和标准差,在常规的室内质控工作中使用良好,无需再购买新的质控品,减少了工作成本。当然,由于在此检测系统中,试剂厂家是固定的,质控血清又是同批号和长期稳定的,对于项目 HDL 和 LDL 虽然是非定值的,由于检测系统固定不变,故室内质控结果稳定性良好,变异小。但是如果改变了试剂厂家,或者说检测系统发生了改变,则需按照室内质控的操作程序重新确定新的靶值和标准差,绘制新的 L-J 质控图。不可套用上述质控物的靶值及标准差,否则会使室内质控结果显示截然不同的结果。

参考文献

- [1] 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,2006:83-85.
- [2] 丛玉龙.医疗机构临床实验室管理办法宣贯手册[M].北京:中国医药科技出版社,2006:149-150.

(收稿日期:2010-12-11)

胶乳增强免疫比浊法定量测试血清肌钙蛋白在日立 7180 全自动生化仪上的应用评价

李小玲,练小芬(广东新兴县人民医院检验科 527400)

【摘要】 目的 探讨胶乳增强免疫比浊法定量测试血清肌钙蛋白 I (cTn I) 在日立 7180 全自动生化分析仪的应用性能评价。**方法** 系统研究胶乳增强免疫比浊法测定 cTn I 灵敏度、精密度及干扰因素。**结果** 胶乳增强免疫比浊法测定 cTn I 批内平均变异系数(CV)为 1.66%,批间平均 CV 为 4.0%,平均回收率 102%。血红蛋白在 2.5 g/L 以下对测定结果无干扰,三酰甘油 4.5 ng/mL 以下对测定结果无干扰,类风湿因子小于 120 U/L,测定结果无干扰,胆红素无干扰,与奥林巴斯全自动生化仪用胶乳增强免疫比浊法测定 cTn I 比较有良好的相关性 $Y=1.008\ 9X+0.002\ 5, r=0.9950 (P<0.01)$ 。**结论** 胶乳增强免疫比浊法定量测定 cTn I 方法简便、快速,具有较高的灵敏度和精密度,可用于全自动分析仪测试,适用于大批量及临床常规使用。

【关键词】 乳胶增强免疫比浊; 肌钙蛋白 I; 心肌损伤; 性能评价。

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.08.055 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)08-0993-02

血清肌钙蛋白 I (cTn I) 对心肌损伤有高度的特异性和敏感性,且血中出现时间早,心肌损伤后更易释放入血,不受骨骼肌损伤影响,血中持续时间长,已成为临床诊断心肌损伤的确定标志物^[1],能更好、更快地反映患者体内心肌受损情况。目前已建立多种检测血清 cTn I 的方法,从最初使用对血清 cTn I 进行定性分析法,发展到各种酶免疫分析法,这些方法虽然准确,但操作繁杂、费时,不适合临床常规测定。胶乳增强免疫比浊法具有快速自动化的特点。因此作者对此法在日立 7180 全自动生化分析仪上的应用进行了系统的评价和探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 6 月至 2010 年 6 月来本院健康体检者 150 例(对照组),均无原发性肝脏疾病、高血压、肾疾病、糖尿病、风湿病及肿瘤等病史,另选取本院 68 例临床确诊为急性心肌梗死(AMI)的患者(病例组)作对照。

1.2 试剂和仪器 (1)试剂:cTn I 检测试剂盒(批号:

20090101)由太原川至生物科技有限公司提供。标准液浓度分别为 1.56、3.13、6.25、12.5、25.0 mg/L(批号:081217)由太原川至生有限公司提供,临床用 20% 英脱利匹特脂肪乳由华瑞制药有限公司提供,cTn I 质控血清,胆红素标准液由本院自制,类风湿因子标准液由罗氏公司提供。血红蛋白(Hb)由本院自备。(2)仪器:日立 7180 全自动生化分析仪,奥林巴斯全自动生化仪,CEU-DYN3700 血细胞分析仪。

1.3 测定原理 样品中 cTn I 的与试剂中抗人 cTn I 抗体胶乳颗粒发生凝集反应,凝集反应形成抗原抗体复合物而产生浊度,其浊度高低在一定量抗体存在时与样品中的 cTn I 成正比,通过测定特定波长的吸光度值,参照标准曲线即可,计算血清中 cTn I 的含量。

1.4 主要测定参数 在日立 7180 全自动生化仪上用胶乳增强免疫比浊法测定血清 cTn I 的主要参数如下:波长 500 nm,温度 37℃,方法为两点速率法。R1 试剂 150 μL,样本 75 μL,

反应 3 min, 再加 R2 试剂 75 μ L, 延迟时间约 100 s, 开始讲读数, 读数时间 120 s, 多点定标, 多参数曲线拟合。

2 结 果

2.1 精密度分别用低、中、高值质控物, 连续测定 20 次, 再每天测 1 次, 共测 20 d, 检测结果见表 1。

表 1 胶乳增强免疫比浊法测定 cTn I 的精密度比较

项目	质控 1(高)	质控 2(中)	质控 3(低)
均值(ng/mL)	16.7	5.3	1.0
批内 CV	1.4	1.6	2.0
批间 CV	4.0	4.5	5.0

2.2 回收试验 将不含 cTn I 的血清与已知浓度纯化 cTn I 的混合($n=5$ 次), 分别加入 cTn I 浓度为 4、9、20 ng/mL 的标准液, 回收率结果见表 2, 血清的平均回收率为 100.3%。

表 2 血清胶乳增强的回收率试验

cTn I 浓度(ng/mL)	实测 cTn I (ng/mL)	回收率(%)
4	3.9	98
9	9.1	101
20	20.4	102

2.3 干扰试验 (1)溶血干扰试验: 将 60 g/L Hb 液配制成不同浓度的 Hb 分别加入同体积的无溶血血清, 用胶乳增强免疫比浊法检测血清 cTn I 的含量。结果 Hb 为 4.5、3.5、2.5、1.5 g/L 时对免疫浊度法分别产生 82%、52%、16%、6% 的负干扰, Hb<2.5 g/L 对胶乳增强免疫比浊法无影响。(2)脂血干扰试验: 将不同浓度的脂肪乳取 0.1 mL 加入 0.9 mL 混合血清, TG<4.5 ng/mL 时对免疫浊度法无干扰。(3)类风湿因子干扰试验: 用同体积混合血清分别加入不同浓度的类风湿因子, 同时测定, 类风湿因子小于 120 U/L 时无干扰。(4)胆红素干扰试验: 将不同浓度胆红素加入同体积混合血清测定, 结果显示任何浓度胆红素无干扰。

2.4 对比试验 取 99 份浓度高低不同的血清标本, 分别用日立 7180 生化分析仪(Y)与奥林巴斯全自动生化分析仪(X)同时测定血清奥林巴斯的含量, 比较两法所测结果。相关系数 $r=0.9950$ 。相关方程为 $Y=1.0089X+0.0025$ 结果显示两法相关性良好。

2.5 准确性 150 例健康对照组, 用胶乳增强免疫浊度法检测结果为 (1.02 ± 0.35) ng/mL, 病例组 68 例 AMI 患者检测结果 (6.13 ± 3.42) ng/mL。两组比较差异有统计学意义。

3 讨 论

cTn I 以两种形式存在于心肌细胞内, 小部分(约 3%)游离于胞浆中, 为可溶性, 大部分以结构蛋白形式固定于肌原纤维上, 为不可溶性。健康人血液中 cTn I 含量一般低于 0.3 μ g/L, 当肌细胞受到损伤时, 游离的 cTn I 先释放入血液中, 随着损伤加重, 结合部分的 cTn I 被降解而不断释放入血液中, 导致血液中 cTn I 持续升高。早期, 认为血液中 cTn I 以游离形式存在, Katrukha 等^[2]近来研究认为: 心肌损伤后循环中 cTn I 主要以 cTn I-TnC 二元复合物存在, 少量以游离 cTn I 存在。心肌细胞损伤早期, 胞浆内游离 cTn I 首先释出, 循环中 cTn I 于 4~6 h 升高, 随后肌原纤维不断崩解破

坏, cTn I-TnC 复合物不断释出, 循环中 cTn I 于 18~24 h 达高峰, 1 周后才降至正常。据研究, 成人的骨骼肌组织在任何阶段都不表达 cTn I, 也不因任何病理刺激表达 cTn I, cTn I 经大量的研究, 已被证实为心肌损伤最特异、最敏感的血清标志物之一^[3]。

人们对血清 cTn I 的检测从最初的到酶免疫技术、放射免疫法, 逐步发展到酶联免疫法、单克隆抗体与荧光酶分析法, 胶体金免疫层析法技术, 对 cTn I 的测定进行了很多尝试。用酶联免疫吸附测定, 由于 cTn I 血清含量偏低, 临床需快速检测。而酶联免疫吸附(ELISA)法存在着测定周期偏长, 费时灵敏度也低, 不适于常规使用; 放射免疫测定法污染环境; 荧光免疫测定法需要专门的荧光分析仪, 胶体金免疫层析基于该方法开发的检测卡, 虽可快速完成检测, 但仅能用于 cTn I 定性和急性心肌梗死患者的初选, 临床应用有一定局限。

近几年来, 随着检测技术的不断发展进步完善, 这为 cTn I 在临床广泛应用奠定了基础。基于透射比浊和散射比浊的方法, 比如粒子增强的免疫浊度分析法、粒子增强的速率散射浊度免疫分析法, 实现了用全自动生化仪的测定。可以更方便地应用于临床常规测定, 因此作者对胶乳增强免疫比浊法试剂盒进行了性能分析。结果表明, 胶乳增强免疫比浊法批内变异系数小于 1.66, 批间变异系数小于 4.0%, 均在允许范围内, 符合美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP5 文件所要求的批间不精密度水平小于 5.0% 的要求。此法具有较好的精密度。平均回收率达到 102%。其对抗脂血、类风湿因子、胆红素的干扰能力较强, 抗血红蛋白能力稍弱。与奥林巴斯全自动生化仪检测系统胶乳增强免疫比浊法进行比较, 两法具有较好的相关性。日立 7180 全自动生化仪检测系统结果略高于奥林巴斯全自动生化仪, 两法比较差异无统计学意义。对照组的平均血清 cTn I 浓度为 (1.02 ± 0.35) ng/mL, 病例组 cTn I 浓度为 (7.13 ± 5.42) ng/mL。病例组 cTn I 水平显著高于对照组血清 cTn I 水平。该法操作简便、快速、准确, 10 min 即可得出结果, 适合批量操作, 不需特殊仪器, 适宜在全自动生化分析仪上使用。血清用量少, 仅需 75 mL 血清, 试剂即开即用, 无需配制。

综上所述, 增强免疫比浊法相关性好、线性范围宽、精密度高, 具有一定的临床应用价值, 用于检测血清 cTn I 的浓度作为一种简便快捷, 准确可靠的测定方法, 可以在医院广泛开展。

参考文献

[1] 潘柏申. 心肌肌钙蛋白的临床应用和检测进展[J]. 上海医学检验杂志, 2003, 18(1): 7-9.

[2] Kartrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, et al. Troponin I is released in blood stream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex[J]. Clin Chem, 1997, 43(8): 1379-1385.

[3] Eugene B, Raymond J, Elliott M, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction[J]. J Coll Cardiol, 2002, 40(7): 1366-1374.