

经过胎盘垂直传播。因此加强围生期保健,住院分娩产前检测感染性病原体血清标志物,能够及早发现阳性患者,对预防和控制母婴垂直传播,防止院内交叉感染,避免医务工作者因为手术、诊疗和其他侵入性操作引起接触传播等具有重要价值。

参考文献

[1] 李开琴,武国春,许欢,等.某山区人群乙型肝炎病毒感染

状况[J].现代预防医学,2007,34(13):75.

[2] 蔡霞,郑美玉,王赛岗.丙肝对孕产妇及胎儿的影响[J].中国实用妇科和产科杂志,1996,13(5):337.

[3] 彭文伟.传染病学[M].5版.北京:人民卫生出版社,2001:18-19.

(收稿日期:2011-07-05)

2-氯-4-硝基苯- α -L-岩藻糖苷测定 α -L-岩藻糖苷酶及性能评价

刘憬程(云南省安宁市中医医院检验科 650300)

【摘要】 目的 应用 2-氯-4-硝基苯- α -L-岩藻糖苷(CNP-AFU)建立检测 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)活力的动力学法,用于血清中 AFU 活性测定。**方法** 基于动力学反应特点,对缓冲液离子强度、pH 值、底物浓度等最佳反应条件及各种实验参数进行研究。用该法在 AU400 全自动生化分析仪上进行相应的性能分析研究。**结果** 该法最低检出限为 2.5 U/L,线性范围可达 250 U/L($r=0.999\ 4$),批内 CV<3%,批间 CV<5%,回收率为 101.3%。**结论** 本法灵敏度高,线性、精密度高,结果准确,且操作简便快速,适用于全自动生化分析仪操作。

【关键词】 2-氯-4-硝基苯- α -L-岩藻糖苷; α -L-岩藻糖苷酶; 原发性肝癌; 动力学法
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.02.056 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)02-0229-02

α -L-岩藻糖苷酶(AFU)是一种存在于生物体内的酸性水解酶。大量的研究资料表明,血清 AFU 在诊断原发性肝癌(PHC)方面有重要价值^[1-3]。因此,建立一种方便、适用的 AFU 检测方法有着重要意义。本文基于 AFU 催化水解 2-氯-4-硝基苯- α -L-岩藻糖苷(CNP-AFU)生成黄色的氯硝基苯酚(CNP),经反复试验确定了最佳实验条件,建立起简便、灵敏、稳定的检测液体中 AFU 活性的动力学法,该方法试剂为液体稳定的单一试剂、适用于全自动生化仪操作。并用于血清中 AFU 活力的测定,均获得满意结果。

1 材料与方法

1.1 样本 来自健康体检者血清样本。

1.2 试剂与仪器 (1)试剂柠檬酸缓冲液 200 mmol/L(pH 4.8)。(2)CNP-AFU 1.0 g/L、稳定剂和防腐剂适量。(3)AFU 标准酶和质控品,由浙江伊利康生物技术公司提供。所有检测均在 AU400 全自动生化分析仪上进行。

1.3 方法

1.3.1 测定原理 样品中 AFU 水解试剂中 2-氯对硝基- α -L-岩藻吡喃糖苷生成氯硝基苯酚和岩藻糖,而引起在波长 405 nm 处吸光度的上升,其上升的速率与 AFU 活力呈正比。通过监测 405 nm 处吸光度上升的速率,可以计算出样品中 AFU 的活性。即在最佳实验条件下,1 000 mL 样品中 AFU 每分钟水解 1 μ mol/L 的 CNP-AFU 发生转变为 1 U 的 AFU 酶量为 1 个单位,简称 U/L。

1.3.2 实验参数反应类型 速率法。波长:405 nm(主)/600 nm(副);反应温度:37℃;试剂:200 μ L;标本:20 μ L;读数时间:180 s。

1.4 统计学处理 试验数据的统计学处理采用 SPSS10.0 统计软件。

2 结果

2.1 吸收光谱 在本试验条件下从 400~600 nm 测定标准溶液的吸光度,得知氯硝基苯酚最大吸收波长为 405 nm。

2.2 最适缓冲离子强度的选择 分别配制 50、100、150、200 和 250 mmol/L 的柠檬酸缓冲液,其他条件不变。分别测试同

一份样品(55 U/L)进行测试。酶反应速率随缓冲液浓度的增加而增高的,但当浓度大于 200 mmol/L 时,酶反应速率反而降低。这是缓冲液浓度太大反而抑制了 AFU 酶的活性,从而导致反应变慢。因此,选择柠檬酸浓度 200 mmol/L 作为最佳缓冲液和最佳浓度。

2.3 最适 pH 的选择 分别配制 pH4.0、4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2 和 5.4 的 8 个不同 pH 的柠檬酸缓冲液,其他条件不变。对 AFU 酶活进行测定,结果 AFU 在 pH4.8 时显示其最大活性。

2.4 底物浓度选择 在其他条件不变的情况下,将试剂中 CNP-AFU 浓度分别调整至 0.5、0.75、1.0、1.25、1.5 g/L,分别测定高、中、低 3 种浓度的质控品。结果显示试剂中 CNP-AFU 浓度为 1.0 g/L 时底物浓度与酶反应速度的反应曲线尾部已趋于平坦,说明反应速度已到最大值,测定此处的反应速度,最能准确反映酶量的多少。所以试剂中 CNP-AFU 的浓度确定为 1.0 g/L。

2.5 反应时间的选择 在其他条件不变的情况下,用样本按反应条件进行操作,选用高、中、低 3 份血清测定 AFU,结果在 180 s 以后 300 s 内反应呈线性,因此选择延迟时间为 120 s,读数时间 60~180 s。

2.6 精密性试验 根据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP5-A2 文件对于精密性评价的要求^[4],分别测定低值、中值和高值 3 种水平的 AFU 活性。2 h 内各水平连续测定 20 次,计算均值($\bar{x}$)、标准差(s)、CV(批内)。每天测定 1 次,连续测定 20 d,计算 $\bar{x}$ 、 s 、CV(日间),结果批内 CV 分别为 CV 低 2.45%、CV 中 1.93%、CV 高 0.86%,批间 CV 分别为 CV 低 4.36%、CV 中 2.84%、CV 高 1.97%。

2.7 回收试验 在 1 份样品中分别加入低、中、高 3 个浓度的 AFU 质控品,同时样品中加入相同体积的蒸馏水做基础样本,每份样品重复测定 3 次,取均值,所得回收率分别为 103.2%、101.5%、99.2%,平均回收率 101.3%。

2.8 线性试验 根据 NCCLS(EP6.P)的评估方案,取浓度分别为 5 U/L 和 250 U/L 标本各 1 份。然后将两份标本按

1:0、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、0:1 的比例混合,产生 9 个不同浓度的样品,用本法从高到低和从低到高两个浓度顺序测定,将测定值(Y)与理论值(X)作线性回归分析,回归方程为 $Y=0.995\ 3X+0.081\ 7$, $r=0.999\ 4$,表明线性可达 250 U/L。

2.9 最低检测限 取浓度为 5 U/L 的质控品作为样品重复测定 10 次,求出 s ,以 $3s$ 为最低检测限,结果为 1.5 U/L。

2.10 参考值 在 AU400 全自动生化分析仪上测定了 100 例健康体检者血清 AFU 活性,其中男 57 例、女 43 例,年龄范围 23~76 岁。结果表明,不同性别、不同年龄间差异无统计学意义($P>0.05$),取总体 $\pm 1.96s$ 作为参考值,结果为 (42.38 ± 4.16) U/L。

3 讨 论

AFU 广泛分布于人体组织细胞、血液和体液中。参与体内糖蛋白、糖脂和寡糖的代谢。由于 AFP 阴性的原发性肝癌患者 AFU 明显升高,因此它作为原发性肝癌(PHC)血清酶标志物,其特异性和敏感性愈来愈受到重视^[5],被认为是原发性肝癌的一种新的肿瘤标记物。AFU 与腺苷脱氨酶(ADA)联合检测能很好诊断肝癌^[6],与甲胎蛋白(AFP)和 CA199 联合检测可将原发性肝癌的敏感性大大提高^[7]。因此,AFU 的检测对肝癌高发人群的筛查、肝癌的早期诊断、疗效判断及预后有着极其重要的意义。本文报道的应用 CNP-AFU 测定 AFU 的试剂,是以 AFU 在最适反应条件下将含呈色基团的底物 CNP-AFU 的 1,4 位糖苷键水解,产物 CNP 在 405 nm 处产生最大吸光度,通过测定吸光度的变化,即可计算出样本中 AFU 的活性。本文对其进行了一系列的试验研究,其结果显示该法

最低检出限为 2.5 U/L,线性范围可达 250 U/L($r=0.999\ 4$),批内 $CV<3\%$,批间 $CV<5\%$,平均回收率为 101.3%,该试剂为液体单一试剂,使用方便、稳定、结果准确,适用于全自动生化分析,完全能满足临床检测要求。

参考文献

- [1] 纪全江,孙丽丽. α -L-岩藻糖苷酶检测的临床应用[J]. 医学检验与临床,2008,19(4):79-80.
- [2] 樊国萍,周定勇. 血清 α -L-岩藻糖苷酶在原发性肝癌诊断中的应用[J]. 淮海医药,2011,29(2):154.
- [3] 窦爱华,徐斌. 岩藻糖苷酶对原发性肝癌的诊断意义再评价[J]. 中国误诊学杂志,2011,11(4):806.
- [4] NCCLS. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods: approved guideline-second edition. NCCLS document EP5-A2[M]. Wayne Pennsylvania: NCCLS, 2002: 1897-1898.
- [5] 于志伟,杨晓卫,段芳玲,等. 血清 α -L-岩藻糖苷酶测定方法及临床应用[J]. 中华医学检验杂志,1992,15(3):139-140.
- [6] 李庆琳,叶跃红,唐波. 多指标联合检测在肝病诊断中的意义[J]. 重庆医学,2007,36(10):907.
- [7] 刘培香,袁正泉. AFP、CA199、AFU 联合检测对原发性肝癌的诊断价值上[J]. 中华现代中西医杂志,2005,3(6):542.

(收稿日期:2011-06-29)

两种糖化血红蛋白测定方法的比较

石秀芳,咎丽娜,孙 峰(安徽省亳州市人民医院检验科 236803)

【摘要】 目的 比较免疫抑制比浊法和离子交换层析法测定糖化血红蛋白(HbA1c)的差异。**方法** 使用免疫抑制比浊和离子交换层析两种不同的方法同时检测 73 份常规样品,进行相关性的比较,结果采用相对偏差、 t 检验及回归方程进行统计分析。**结果** 免疫比浊法和层析法测定结果相比,正常组偏低 0.15%、异常组偏低 0.08%、不分组偏低 0.11%,数据统计分析, t 值分别为 1.29、0.16、0.36, $P>0.05$,差异无统计学意义;回归方程: $Y=0.886\ 4X+0.782$, $r=0.804\ 9$; $Y=0.822\ 6X+1.553\ 8$, $r=0.951\ 9$; $Y=0.899\ 2X+0.811\ 5$, $r=0.970\ 2$ 。**结论** 免疫抑制比浊法和离子交换层析测定 HbA1c 结果相比差异无统计学意义,两种方法测定 HbA1c 结果的系统误差属临床可接受水平。

【关键词】 糖化血红蛋白; 免疫抑制比浊法; 离子交换层析法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.02.057 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)02-0230-03

糖化血红蛋白(HbA1c)是血红蛋白(Hb)与糖类(如葡萄糖醛酸或 1,6-二磷酸果糖)经非酶促反应结合而成,其合成过程缓慢且不可逆,不受血糖浓度短暂波动的影响,能反映糖尿病患者在过去 2~3 个月的平均血糖水平,是糖尿病患者长期监护、预防并发症的产生或加剧的重要手段。2002 年美国糖尿病协会(ADA)已将 HbA1c 作为监测糖尿病控制的金标准。目前,HbA1c 的测定方法主要有 4 类,其中离子交换高效液相色谱法被认为是国际标准化检测方法,而临床实验结果表明,离子交换层析法^[1]、免疫抑制比浊法^[2]对患者标本检测的基本性能可以满足临床对糖尿病患者的监测要求,为比较两者结果的差异程度,特做以下实验,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本 全部来源于门诊、住院患者新鲜的乙二胺四乙酸

(EDTA)抗凝全血标本 73 份。

1.2 试剂与仪器 HbA1c、Hb 试剂及标准、质控品来源于北京利德曼公司,仪器为日立 7600 全自动生化仪。MQ-2000 全自动 HbA1c 分析仪及配套试剂由上海惠中公司提供。

1.3 方法 严格按照操作说明书,采集患者的空腹 EDTA 抗凝全血,缓慢混匀样品,EDTA 抗凝血标本取 10 μ L+500 μ L 溶血素处理,静置 15 min,免疫抑制比浊法检测 HbA1c 和 Hb 结果,计算 HbA1c 结果,同时 EDTA 抗凝标本于 MQ-2000 仪器直接检测 HbA1c 结果。根据 HbA1c 结果分为正常组(3%~6.1%)、异常组(6.1%~14%)和不分组(3%~14%),并对有关数据进行统计分析。

1.4 统计学处理 用 Excel 软件进行统计学处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。