

• 论 著 •

不同添加剂对自制同型半胱氨酸质控品质量的影响*

石建新¹, 朱岩², 蒋英^{1△}, 向莹君¹, 林惠玲¹, 段桂开², 蔡应木³

(1. 广东省深圳市福田区慢性病防治院 518048; 2. 广东省深圳市妇幼保健院 518028;

3. 汕头大学医学院第一附属医院, 广东汕头 515041)

摘要:目的 探讨不同添加剂对自制同型半胱氨酸(Hcy)室内质控品质量的影响。方法 以混合人血清为基质, 分别加入叠氮钠、乙二醇、丙三醇作为添加剂制备 Hcy 质控品, 评价不同质控品的不精密度、开瓶稳定性和储存稳定性。结果 3 种质控品的不精密度和开瓶稳定性均符合要求, 以添加乙二醇的质控品不精密度和开瓶稳定性最佳; 在储存稳定性方面, 添加叠氮钠的质控品稳定期只有 4 个月, 添加乙二醇、丙三醇的质控品稳定期均大于 12 个月。结论 以乙二醇作为添加剂制备 Hcy 质控品, 综合性能优于丙三醇和叠氮钠。

关键词: 添加剂; 同型半胱氨酸; 质控品

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.13.009 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)13-1767-02

Effects of different additives on quality of self-made quality control material of homocysteine*

SHI Jianxin¹, ZHU Yan², JIANG Ying^{1△}, XIANG Yingjun¹, LIN Huiling¹, DUAN Guikai², CAI Yingmu³

(1. Futian Center For Chronic Disease Control, Shenzhen, Guangdong 518048, China; 2. Shenzhen Health

Care Hospital of Women and Children, Shenzhen, Guangdong 518028, China;

3. First Affiliated Hospital of Shantou University, Shantou, Guangdong 515041, China)

Abstract: Objective To evaluate effects of different additives on quality of self-made quality control material of homocysteine (Hcy). **Methods** Pooled human serum was used as the medium for the quality control material. Sodium azide, ethylene glycol and glycerol were added as additives. The imprecision and stabilities after opening and in storage were evaluated. **Results** The imprecision and stabilities after opening of the three kinds of quality control materials reached the agreed standard, of which the ethylene glycol demonstrated outstanding effects in imprecision and stabilities after opening. In the aspect of stabilities in storage, the stability of the quality-control material, containing sodium azide, was four months, and the stability of the quality control material, containing ethylene glycol and glycerol, were more than 12 months. **Conclusion** The comprehensive performance of ethylene glycol might be superior to glycerol and sodium azide as the additive to prepare quality control material of Hcy.

Key words: additive; homocysteine; quality control material

质控品在临床实验室室内质量控制工作中起着重要作用, 由于进口质控品价格昂贵, 国产质控品在采用不同检测原理的分析仪上的检测数据有较大差异。为节约成本, 提高质量, 国内外学者曾对自制质控品进行了相关研究^[1-3]。国内标准《GB/T20468-2006 临床实验室定量测定室内质量控制指南》也明确指出: 实验室可以自制质控品。然而, 在自制质控品添加剂选择方面, 各研究报道不尽相同, 目前国内也对此尚无统一标准^[4-9]。本项目分析了不同添加剂对自制同型半胱氨酸(Hcy)质控品的影响, 以期确定理想的添加剂用于质控品的制备。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 深圳迈瑞公司 BS-800 型全自动生化分析仪, 分析纯级叠氮钠、乙二醇、丙三醇购自天津永大化学试剂有限公司, Hcy 检测试剂购自永和阳光生物科技有限公司(批号 140903、150401), 质控品购自英国朗道公司。

1.2 方法

1.2.1 质控品的制备 (1) 收集足量的血清标本(乙型肝炎表面抗原、抗丙型肝炎病毒抗体、抗人免疫缺陷病毒抗体检测结果均为阴性), 排除溶血、黄疸、脂血标本。(2) 将血清标本平均分成 3 份, 分别加入适量叠氮钠、乙二醇、丙三醇(命名为 A、B、C 组), 充分混匀, 分别取样检测 Hcy 浓度。符合预期效果后

以 0.2 μm 滤器过滤除菌, 以 500 微升/管的标准分装至微量离心管中, 封口后 -20 °C 冻存备用。

1.2.2 性能评价 在仪器维护保养后进行 Hcy 检测项目定标, 并在原配质控品检测结果在控制范围内的条件下进行冻存标本检测。(1) 不精密度检测^[3]: 在 1 d 内, 分别从 A、B、C 组冻存标本中随机各抽取 1 支, 连续测定 Hcy 20 次, 计算平均值(\bar{x})、标准差(s)、变异系数(CV), 评价批内不精密度。每天从 A、B、C 组冻存标本中随机各抽取 1 支, 测定 Hcy 1 次, 连续测定 20 d, 计算 \bar{x} 、 s 、CV, 评价批内日间不精密度。批内不精密度低于 3.9%, 批内日间不精密度低于 5%, 判为符合要求^[10]。(2) 储存稳定性^[8]: 每天从 A、B、C 组冻存标本中随机各抽取 1 支, 测定 Hcy 1 次, 连续测定 6 个月, 计算每个月和累积 6 个月的 \bar{x} 、 s 、CV, 采用配对 t 检验比较第 1 个月与第 2~6 个月的检测结果, 同时对累积 6 个月的检测结果与日内、日间精密度分析检测结果进行配对 t 检验分析。在第 12 个月再按上述方法进行测定, 测定结果与第 1 个月的检测结果进行配对 t 检验分析。(3) 开瓶稳定性^[9]: 取 A、B、C 组冻存标本, 开封后 2~8 °C 密闭存放, 每天检测 2 次, 计算 \bar{x} , 连续检测 14 d, 计算 CV。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用配对 t 检验和两独立样本 t 检验进行数据分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

* 基金项目: 广东省深圳市科委科技研发资金项目 (JCYJ20150402144008782)。

作者简介: 石建新, 男, 检验师, 主要从事临床检验研究。△ 通讯作者, E-mail: 993987844@qq.com。

2 结 果

2.1 不精密度 A、B、C组质控品批内测定结果分别为13.29±0.33、10.66±0.26、11.26±0.36 μmmol/L,不精密度分别为2.48%、2.40%、3.18%;批内天间测定结果分别为(13.31±0.52)、(10.61±0.30)、(11.32±0.48)μmol/L,不精密度分别为3.87%、2.79%、4.24%。批内不精密度和批内天间不精密度符合要求。

2.2 储存稳定性 储存稳定性分析结果见表1。

表1 含不同添加剂质控品储存稳定性分析(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)

时间	A组	B组	C组
第1个月	13.16±0.51	10.60±0.33	11.15±0.47
第2个月	13.23±0.42	10.64±0.30	10.99±0.44
第3个月	13.26±0.42	10.63±0.30	10.98±0.44
第4个月	13.11±0.44	10.60±0.35	11.01±0.43
第5个月	12.81±0.29*	10.60±0.26	11.01±0.40
第6个月	—	10.64±0.31	11.00±0.34
第12个月	—	10.55±0.24	10.95±0.40

注:与同组第1个月检测结果比较,* $P<0.05$;—表示无数据。

2.3 开瓶稳定性 A、B、C组质控品开瓶后连续检测14 d,各组CV均符合要求,见表2。

表2 含不同添加剂质控品开瓶稳定性分析

组别	\bar{x} (μmol/L)	s(μmol/L)	CV(%)
A组	13.19	0.56	4.28
B组	10.60	0.34	3.18
C组	11.28	0.40	3.58

3 讨 论

可用于Hcy检测的方法较多,如循环酶法、气相色谱-质谱联用法、高效液相色谱法(HPLC)、荧光偏振免疫法(FPIA)、高效毛细管电泳法等。国内主要采用自动生化分析仪以循环酶法进行Hcy检测。国家卫生和计划生育委员会临检中心2012年全国调查数据显示,Hcy检验质量并不理想,即使合格率最高的循环酶法,也仅有31.4%的西格玛(δ)值为3~6,11.6%的实验室满足 $\delta>6$ 的要求,实验室间CV为10.46%~14.21%^[11]。因此,如何确保Hcy检验质量尤其重要。室内质控是评价检验结果是否可靠,判断能否发出常规检验报告的必要措施^[12]。在室内质控活动中,质控品是关键因素。目前,符合要求的国产Hcy质控品较少,且许多为水剂,与Hcy在血清中的存在状态有较大区别,难免会产生基质效应,影响质控工作的实际效果。进口质控品则价格昂贵。因此,实验室自制Hcy质控品很有必要。理想的临床化学检验质控品应具备以下特性:具有人血清基质特征;无传染性;添加剂和调制物的数量尽可能少;瓶间变异小;稳定时间足够长^[13]。此外,分析物稳定性是评价质控品优劣的重要指标。因此,在质控品制备过程中,需要添加一定的添加剂以保证质控品的稳定性。在添加剂选择方面,张培育等^[4]选用叠氮钠自制视黄醇结合蛋白质质控品,瓶间变异小;张志强^[5]选用丙三醇自制生化质控品,稳定性良好;另有学者选用乙二醇作为添加剂,质控品稳定性良好^[6,14]。

本研究分析了上述3种常用添加剂对质控品的稳定性和不精密度的影响。结果显示,加入叠氮钠、乙二醇、丙三醇的质控品批内不精密度分别为2.48%、2.40%、3.18%,批内天间不精密度分别为3.87%、2.79%、4.24%,批内不精密度低于3.9%,批内天间不精密度低于5%,说明以3种添加剂制备的

质控品,重复性良好,变异小,符合要求^[10]。其中,以乙二醇制备的质控品不精密度最低。储存稳定性检测结果显示,添加叠氮钠的质控品稳定期只有4个月,从第5个月开始检测结果与第1个月比较差异有统计学意义($P<0.05$)。添加乙二醇、丙三醇的质控品稳定期都超过12个月。开瓶稳定性检测结果显示,含不同添加剂的质控品在14 d以内的检测结果均稳定,CV值都小于5%,其中添加乙二醇的质控品CV值最低。

综上所述,以叠氮钠、乙二醇、丙三醇作为添加剂的质控品不精密度和开瓶稳定性均符合要求,以添加乙二醇的质控品不精密度和开瓶稳定性最佳,储存稳定性也优于叠氮钠,可能是因为乙二醇具有高渗作用和抗氧化性,可防止细菌生长和待测物的氧化,还能够降低液态质控品的凝固点,减小冻融对质控品稳定性的影响^[7]。而叠氮钠仅有防腐作用,无防冻功能,不利于血清在-20℃条件下长期冻存。因此,建议首选乙二醇作为自制质控品的添加剂。也有学者同时采用叠氮钠和其他稳定剂作为添加剂,以延长叠氮钠的稳定性^[9]。然而,此种方法增加了添加剂的种类,加大了基质效应,从尽可能减少添加剂数量和叠氮钠有一定的毒性角度考虑^[13],笔者不建议采用此方法。受限于时间、实验条件等因素,本研究只针对Hcy进行了检测,未涉及其他检测项目,因此不同添加剂对其他检验项目检测结果的影响有待进一步研究。

参考文献

- [1] 崔婷,马建锋.以患者新鲜血清标本制备室内质控品的应用研究[J].检验医学与临床,2014,11(6):737-738.
- [2] Rixin J. Stability of lyophilized human serum for use as quality control material in Bhutan[J]. Indian J Clin Biochem, 2013, 28(4):418-421.
- [3] 袁学进,李全双,邓演超.自制糖化血红蛋白质控品及其性能评价[J].检验医学与临床,2012,9(18):2310-2311.
- [4] 张培育,邓演超,李全双,等.自制视黄醇结合蛋白质质控品及其性能评价[J].中华全科医学,2013,11(12):1947-1948.
- [5] 张志强.丙三醇对自制血清质控物稳定性的影响[J].临床输血与检验,2004,6(1):38-39.
- [6] 刘强,龙学德.自制生化质控物使用心得[J].中国医学创新,2010,7(1):162.
- [7] 张淑琼,杨映平,吕浩,等.临床化学检验质控物的研制与应用[J].现代检验医学杂志,2003,18(1):34.
- [8] 姜新华,赵燕飞,吴小明,等.自制雌二醇性激素室内免疫质控品及其性能评价[J].检验医学,2010,25(5):403-404.
- [9] 唐立萍,张瑞锦,居漪,等.复合血脂质控品的制备及性能评价[J].检验医学,2013,28(5):430-433.
- [10] 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,2006:79-81.
- [11] 赵彦,康凤凤,王薇,等.同型半胱氨酸不同检测方法结果分析[J].检验医学,2015,30(3):284-286.
- [12] 王治国,李小平,武平原.临床检验定量测定室内质控系统的建立[J].检验医学,2004,19(1):6-9.
- [13] 王治国.临床检验质量控制技术[M].3版.北京:人民卫生出版社,2014:327.
- [14] 滑艳,常若云,周爱华,等.液体质控血清的制备及稳定性观察[J].陕西医学检验,2000,15(3):42.