

尿 HCG 质控品均匀性和稳定性的评价

丁玮洁¹, 夷 峥^{1#}, 王梓蒙¹, 石 巍², 黄维纲^{1△}

1. 上海市临床检验中心, 上海 200126, 2. 上海伊华医学科技有限公司, 上海 201203

摘 要:目的 通过化学发光免疫分析法(CLIA)和胶体金法两种方法对尿人绒毛膜促性腺激素(HCG)质控品的均匀性和稳定性进行评价。方法 采用 CLIA 和胶体金法检测尿 HCG 质控品中的 HCG。结果 储存 4 个月内, 质控品的均匀性和稳定性均符合要求, 两种方法评价的结果一致。质控品储存 5 个月时, CLIA 检测显示: 质控品 HCG 水平不在稳定性范围(92.55~103.89 mIU/mL)内, 质控品不稳定; 胶体金法检测显示: 结果为 100% 阳性, 质控品稳定。结论 用 CLIA 和胶体金法相结合的评价方式可更准确地评价尿 HCG 质控品的均匀性和稳定性。

关键词: 尿人绒毛膜促性腺激素; 质控品; 化学发光免疫分析法; 均匀性; 稳定性
中图法分类号: R446.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2021)24-3568-03

Assessment of the uniformity and stability of the quality control products for urine HCG detection

DING Weijie¹, YI Zheng^{1#}, WANG Zimeng¹, SHI Wei², HUANG Weigang^{1△}

1. Shanghai Center for Clinical Laboratory, Shanghai 200126, China; 2. Shanghai Yihua Medical Science & Technology Co., Ltd., Shanghai 201203, China

Abstract: **Objective** To evaluate the uniformity and stability of quality control products for urinary human chorionic gonadotropin (HCG) detection by using chemiluminescence immunoassay (CLIA) and colloidal gold technique. **Methods** The HCG in the quality control products were detected by using chemiluminescent and colloidal gold technique. **Results** Within 4 months of storage, the uniformity and stability of the quality control products all met the requirements, and the evaluation results of the two methods were consistent. When the quality control products were stored for 5 months, the results of CLIA showed that the HCG concentrations of the quality control products were not within the stability range (92.55—103.89 mIU/mL), and the quality control products were unstable; the colloidal gold test showed that the result was 100% positive, the quality control products were stable. **Conclusion** The evaluation method combining CLIA and colloidal gold test can evaluate the uniformity and stability of urine HCG quality control products more accurately.

Key words: urine human chorionic gonadotropin; quality control products; chemiluminescent immunoassay; uniformity; stability

人绒毛膜促性腺激素(HCG)是一种可促进性腺发育的糖蛋白激素, 主要由胎盘的合体滋养层细胞分泌, 其分子结构中包含 α 、 β 两个非共价结合的亚基, α 亚基由 92 个氨基酸构成, β 亚基由 145 个氨基酸构成, 其中 α 亚基与黄体生成素(LT)、促卵泡生成素(FSH)和促甲状腺激素(TSH)同源, 而 β 亚基则具有较高的特异性, 在分析检测中具有较大价值^[1]。HCG 对维持早期妊娠和胚胎发育有重要作用, 是早期妊娠诊断和孕期监控的常用指标, HCG 水平的骤降或大幅波动可能预示着异常妊娠或先兆流产。此外, HCG 的检测在其他疾病诊断或筛查中的应用也极为广泛, 如妊娠滋养层疾病(绒毛膜上皮癌等)的诊断和监控、妊娠高血压综合征的预测、唐氏综合征的产前筛查

等^[2-4]。对 HCG 的检测, 不同实验室有不同的检测系统。发展较快、应用较广的方法是对总 β -HCG 进行检测的化学发光免疫分析法(CLIA)^[5]。免疫学分析是基于抗原抗体间特异性反应而建立的检验方法。目前, 免疫学分析主要包括酶联免疫吸附测定法、时间分辨荧光免疫测定法、CLIA 和免疫层析法等^[6-7]。CLIA 兼有化学发光分析的高灵敏度和免疫学分析的高特异性。CLIA 的灵敏度高(一般达 $10^{-16} \sim 10^{-21}$ mol/L), 线性范围宽, 样品自身发光, 背景干扰低, 检测结果精准可靠, 但需要专业人员操作, 设备及封闭的检测体系无法适用于现场检测^[8]。Beckman Coulter Access 2 CLIA 系统对总 β -HCG 的检测属于双位点酶联免疫吸附试验(双抗体夹心法), 采用碱性磷酸

作者简介: 丁玮洁, 女, 主管技师, 主要从事质控品的研发和评价。 # 并列第一作者。 △ 通信作者, E-mail: huangweigang@sccl.org.cn。
本文引用格式: 丁玮洁, 夷峥, 王梓蒙, 等. 尿 HCG 质控品均匀性和稳定性的评价[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(24): 3568-3570.

酶发光体系。胶体金试纸条检测 HCG 具有简便、快速且不需要仪器设备的优点,已经被广泛应用于临床尿液或者血清 HCG 的检测^[9]。本研究在常规胶体金定性评价尿 HCG 质控品的基础上,引入 CLIA 定量检测质控品 HCG 水平,以期达到准确监控尿 HCG 质控品稳定性和均匀性的目的。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 采用 Beckman Coulter Access 2 CLIA 系统进行 HCG 定量检测。尿 HCG 质控品为上海市临床检验中心下发的质控品[上海伊华医学科技有限公司产品(批号:20290602、20290902)];HCG 定量检测采用仪器配套试剂及定标品;尿 HCG 检测试纸条为艾博生物医药(杭州)有限公司产品;HCG 标准品购自上海安普实验科技股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 HCG CLIA 定量检测方法的建立和使用 配制水平为 0、30、60、150 和 200 mIU/mL 的尿 HCG 标准溶液并采用全自动 CLIA 系统对上述标准溶液进行检测,绘制标准曲线,建立 HCG CLIA 定量检测方法。然后用建立的 CLIA 定量检测方法对尿 HCG 质控品中的 HCG 进行测定。

1.2.2 尿 HCG 质控品均匀性评价 取 10 瓶质控品进行检测,每瓶重复检测 2 次。CLIA:对检测数据进行统计学处理。胶体金法:按试剂盒操作说明书操作,若检测结果符合率为 100%,则表明样品均匀性符合要求。

1.2.3 尿 HCG 质控品开瓶稳定性评价 分别于开瓶后 1、2、3、5 和 7 d 对尿 HCG 质控品进行检测,取 3 瓶质控品,每个样品重复检测 2 次。CLIA:计算检测结果的平均值,与原始水平平均值进行比较,若差值在 3s 内,则认为样品是稳定的^[10]。胶体金法:若检测结果符合率为 100%,则表明样品是稳定的。

1.2.4 尿 HCG 质控品储存稳定性评价 每月取 6 瓶尿 HCG 质控品,每个样品重复检测 2 次。CLIA:计算检测结果平均值,与原始平均值进行比较,若差值在 3s 内,则认为质控品是稳定的。胶体金法:若检测结果符合率为 100%,则表明样品是稳定的。

1.3 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2010 软件进行统计分析。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。尿 HCG 质控品均匀性评价采用方差分析,根据检测结果计算 F 值,若计算得到的 F 值小于 F 临界值(检验水准 $\alpha=0.05$),则表明样品间差异无统计学意义,即样品是均匀的^[11]。

2 结果

2.1 HCG CLIA 定量检测方法的建立 水平为 0、30、60、150 和 200 mIU/mL 的尿 HCG 标准溶液的检测结果依次为 (0.10 ± 0.01) 、 (43.67 ± 0.84) 、 (88.88 ± 0.58) 、 (168.09 ± 1.88) 、 (226.56 ± 4.53) mIU/mL。通过线性拟合,得到线性回归方程: $Y=$

$1.0879X + 9.7241, R^2=0.9908$,线性良好。

2.2 尿 HCG 质控品的均匀性 对 2 个批号(20290602、20290902)的尿 HCG 质控品进行检测。 F 临界值 $F_{0.05(9,10)}=3.02$,根据化学发光法的定量检测结果[分别为 (98.22 ± 1.89) 、 (118.8 ± 3.01) mIU/mL]进行计算, F 值分别为 0.58 和 2.04,均小于 F 临界值 $[F_{0.05(9,10)}=3.02]$,这表明尿 HCG 质控品是均匀的。胶体金法检测这 2 个批号尿 HCG 质控品的结果均为阳性,结果符合率均为 100%。

2.3 尿 HCG 质控品的稳定性

2.3.1 开瓶稳定性 20290602 批次质控品 HCG 水平平均值为 98.22 mIU/mL, s 为 1.89 mIU/mL,按 $\bar{x} \pm 3s$ 确定稳定性范围为 92.55~103.89 mIU/mL。开瓶后 1、2、3、5 和 7 d 的检测值分别为 (95.49 ± 1.47) 、 (94.64 ± 2.16) 、 (95.64 ± 2.15) 、 (100.20 ± 2.31) 、 (101.79 ± 3.44) mIU/mL,平均值均在稳定性范围内。胶体金法检测均为阳性,结果符合率为 100%。

2.3.2 储存稳定性 储存 1、2、3、4、5 个月时,CLIA 检测结果分别为 (94.70 ± 1.01) 、 (100.03 ± 1.75) 、 (101.21 ± 2.36) 、 (99.36 ± 2.47) 、 (81.16 ± 1.87) mIU/mL。储存 5 个月时质控品 HCG 水平已经不在稳定性范围(92.55~103.89 mIU/mL)内,表明该质控品不稳定;而采用胶体金法,检测结果仍为 100%的阳性,表明该质控品仍是稳定的,但与前 4 个月时的检测结果相比,阳性条带有减弱的趋势。

3 讨论

临床上常将 HCG 作为正常早期妊娠、异位妊娠、葡萄胎和绒毛膜癌等的诊断或鉴别诊断指标。若检测结果为弱阳性,则提示临床医生应进行复查,以避免漏检或误诊。从质量控制的角度而言,对尿 HCG 质控品的均匀性和稳定性进行评价是很有必要的。

本课题组首先采用 Beckman Coulter Access 2 CLIA 检测系统对 HCG 标准溶液进行了检测,根据检测结果绘制了标准曲线,建立了尿 HCG CLIA 定量检测方法,所得的线性回归方程的线性拟合系数大于 0.99,线性良好。然后,本课题组选用上海市临床检验中心下发的室内质控品作为研究对象,采用胶体金法定性检测和 CLIA 定量检测评价了尿 HCG 质控品的均匀性和稳定性。本研究显示:该质控品均匀性符合要求;开瓶稳定性符合要求;4 个月内两种方法评估储存稳定性,结果均为稳定;储存 5 个月时,胶体金法评估的结果为稳定,而 CLIA 评价结果为不稳定。

在产品均匀性及开瓶稳定性的评价中,CLIA 和胶体金法评价的结果均一致。储存 4 个月内的稳定性评价中,两种方法的结果一致(本次研究的对象有效期为 4 个月);储存 5 个月时的稳定性评价中,两种方法的结果不一致。采用 CLIA 评价质控品时,检测结果经计算后已经不在稳定性的范围内,表明该批次

的质控品已经失控,而胶体金法评价质控品时,检测结果仍为 100% 阳性,稳定性符合要求。但是从实际的试纸条反应来看,检测结果与前 4 个月时的结果相比,阳性条带有减弱的趋势。

胶体金法和 CLIA 是临床实验室最常用的检测方法,联合采用这两种方法进行检测可有效降低结果中的假阳性^[12]。通常 HCG 的检测方法中胶体金免疫层析法较为常用,主要原因在于该方法操作简便快速,在使用过程中不需要使用其他特殊设备或仪器,同时检测标本便于储存^[13]。CLIA 具有检测灵敏度高、检测值可定量、可实现自动化检测的特点。在对尿 HCG 质控品进行均匀性和稳定性质量控制时,CLIA 可以更直观地对结果进行判断。在质控品储存时间临近有效期时,CLIA 检测灵敏度高的优势更能体现,可以有效提高尿 HCG 室内质量控制的效果。

参考文献

[1] 伍华颖. 游离 β 人绒毛膜促性腺激素和甲胎蛋白化学发光免疫分析法的建立与性能评价[D]. 广州:南方医科大学,2018.

[2] CAO L, FANG C, ZENG R, et al. Paper-based microfluidic devices for electrochemical immunofiltration analysis of human chorionic gonadotropin[J]. Biosens Bioelectron, 2017, 92: 87-94.

[3] 毛琴琴, 王晓明. 化学免疫发光检测早期妊娠孕妇血清总人绒毛膜促性腺激素的临床价值[J]. 吉林医学, 2020, 41(5): 1206-1207.

[4] OZGUR E, ROBERTS K E, OZGUR E O, et al. Ultra-sensitive detection of human chorionic gonadotropin using frequency locked microtoroid optical resonators[J]. Anal Chem, 2019, 91(18): 11872-11878.

(上接第 3567 页)

[8] 谭琳, 刘琳, 谢瑜, 等. 地西他滨治疗骨髓增生异常综合症的疗效及对心肺功能的影响[J]. 癌症进展, 2019, 17(20): 95-97.

[9] 常炳庆, 胡蓉华, 惠吴函, 等. 超小剂量地西他滨治疗中高危骨髓增生异常综合征患者的疗效及相关因素分析[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(11): 46-50.

[10] 李萨萨, 陶千山, 蒲莲芳, 等. 超小剂量地西他滨治疗骨髓增生异常综合征的近期疗效和不良反应观察[J]. 安徽医药, 2016, 20(6): 1174-1177.

[11] 叶吉明, 辜学忠, 储雨妍, 等. 地西他滨和沙利度胺两种方案治疗骨髓增生异常综合征的临床疗效[J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(3): 72-76.

[12] 黄月琴, 张学亚, 吴诗馨, 等. 地西他滨联合 IAG 方案治疗老年 MDS 转化为急性髓系白血病患者的疗效观察[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(6): 1641-1646.

[5] 秦雪君, 安敏芝, 李扬宇, 等. Beckman Coulter Access DXI800 与 Cobas e411 两种化学发光免疫检测系统检测血清总 β -HCG 结果的比对分析[J]. 中外医疗, 2016, 35(23): 33-36.

[6] 张文静. 不同粒径金纳米对双抗体夹心免疫层析试纸条检测性能的影响[D]. 南昌:南昌大学, 2019.

[7] 杨一鸣, 王绍波, 徐小玲. 化学发光免疫分析在 HBVM 定量检测的临床应用[J]. 放射免疫学杂志, 2005, 12(1): 71-73.

[8] LARA F J, AIRADO-RODRÍGUEZ D, MORENO-GONZÁLEZ D, et al. Applications of capillary electrophoresis with chemiluminescence detection in clinical, environmental and food analysis: a review [J]. Anal Chim Acta, 2016, 913(1): 22-40.

[9] 谢晖, 马秀芝, 张乃键, 等. 胶体金法检测血清人绒毛膜促性腺激素用于宫外孕鉴别诊断的可行性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(11): 1576-1577.

[10] 中国合格评定国家认可委员会. 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南: CNAS-GL003[S/OL]. [2021-04-07]. <https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/rkzn/2018/03/889121.shtml>.

[11] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2003.

[12] 卢小岚, 汪光蓉, 牟代勇, 等. GICA 和 CLIA 联合检测 SARS-CoV-2 特异性抗体的检测策略研究[J/OL]. 病毒学报 (2021-03-19) [2021-04-07]. <https://doi.org/10.13242/j.cnki.bingduxuebao.003907>.

[13] 何锋荣, 曾令恒, 操龙斌. 两种胶体金试纸条检测血清人绒毛膜促性腺激素的性能评价[J]. 中国医药指南, 2020, 18(34): 1-3.

(收稿日期: 2021-03-29 修回日期: 2021-09-22)

[13] 舒华娥, 方腾. 地西他滨治疗低中危骨髓增生异常综合症的疗效及患者生存预后因素分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(1): 214-217.

[14] 刘双娇, 张艳彬, 孟伟, 等. 沙利度胺联合低剂量地西他滨治疗骨髓增生异常综合征疗效及对患者 Th17 和 Th22 细胞水平的影响[J]. 药物流行病学杂志, 2018, 27(9): 594-598.

[15] 石锐, 郭素青, 陈园园, 等. 低剂量地西他滨单药治疗骨髓增生异常综合征的疗效分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(5): 1568-1573.

[16] 鲍振华, 赵洪国, 于虹娥. 地西他滨治疗骨髓增生异常综合征的临床观察及预后因素分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 26(6): 132-137.

(收稿日期: 2021-03-11 修回日期: 2021-08-09)