

• 仪器使用与排障 •

Lica 光激化学发光免疫分析系统检测乙肝两对半的性能评价*

张阳根[△], 胡桂华, 黄林江

(中国人民解放军第一七五医院/厦门大学医学院附属东南医院检验科, 福建漳州 363000)

摘要:目的 对 Lica 光激化学发光免疫分析系统主要性能进行初步评价。方法 以美国临床实验室标准化协会(CLSI)制定的评价标准,通过一系列实验设计,对 Lica 光激化学发光免疫分析系统进行乙肝“两对半”检测的精密度、准确度、线性、分析灵敏度等进行评价。结果 Lica 光激化学发光免疫分析系统进行乙肝“两对半”检测,批内不精密度变异系数在 1.49%~4.40%,总不精密度在 2.15%~6.22%,回收试验的回收率为 96.32%~106.54%,HbsAg、Anti-HBs、HBeAg、Anti-HBe、Anti-HBc 的分析灵敏度分别为 0.04 ng/mL、1.72 mIU/mL、0.09 PEIU/mL、0.31 PEIU/mL、0.02 PEIU/mL。结论 Lica 光激化学发光免疫分析系统各方面性能良好,测定样本快速、准确、精密可靠,能适应医院日常样本的检测需要。

关键词: 肝炎,乙型,慢性; 光激化学发光免疫分析系统; 性能评价; 精密度; 线性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.19.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)19-2250-02

中国是乙型肝炎(简称乙肝)病毒感染的高发区,所有乙肝患者中 15%~25%将死于慢性肝病(肝癌、肝硬化),因此,及时、有效的检测方法对乙肝的诊治显得尤为重要。随着对乙肝研究的深入和新的抗病毒药物的问世,仅仅定性检测已经满足不了临床需求。近年来,随着定量免疫检测技术平台的完善和新的检测技术化学发光技术的发展和成熟,乙肝定量检测已经成为不少实验室的选择。笔者对本科室目前使用的博阳生物科技(上海)有限公司生产的光激化学发光分析(Lica)光化学发光免疫分析系统(包括 Lica SP 全自动加样器及 Lica HT 高通量分析仪)及配套乙肝“两对半”检测试剂盒进行了初步性能评价,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院门诊及住院患者血清以及各项目临床异常高值标本。

1.2 仪器与试剂 采用 Lica 光激化学发光免疫分析系统,乙肝“两对半”检测试剂盒及配套校准品(批号:H1012),高值(H)及低值质控物(批号:C1012)。

1.3 方法

1.3.1 实验准备 对仪器进行维护保养及校准,连续观察仪器运行状态 1 周,运行稳定且状态良好,熟悉仪器操作及实验步骤后进行各项性能评价。所有实验运行均在仪器状态良好,质控在控前提下进行。

1.3.2 实验设计

1.3.2.1 精密度评价 采用上海博阳同一批号 2 个浓度质控品 H、L,根据 CLSI EP5-A2 文件要求开展重复性试验,并计算批内不精密度及总不精密度。

1.3.2.2 准确度评价 鉴于目前尚无相关质量评价以及比对依据,采取回收试验的方法,将临床常规样本与各浓度校准品等量 1:1 混合,通过检测前后浓度值及校准品给定值计算回收率。

1.3.2.3 线性评价 根据 CLSI EP6-A 文件要求进行线性试验。高值标本(H):分别收集各项目超过试剂说明书线性范围上限标本。低值标本(L):分别收集各项目低于试剂说明书线性范围下限的标本,难以收集时用新生牛血清代替。

测定样本 11 个水平浓度,将 H 和 L 按 0:10、1:9、2:8……9:1、10:0 的比例各自配置混合,形成系列测试标本。每个浓度样本测试 4 次,所有样本应尽量在 1 次实验中测试完成。记录测定结果,计算测定结果的均值。以测得的均值为实测值,与计算预期值进行比较。用直线回归统计对数据做处理,计算回归方程 $Y = bX + a$ 。

1.3.2.4 分析灵敏度 取上海博阳校准品 1(浓度为 0)各 2 支。要求在 1 次运行中将校准品 1 重复测定 20 次。计算该校准品 1 光信号的均值(MEAN)和标准差(SD),然后将 $MEAN + 2SD$ (夹心法),或 $MEAN - 2SD$ (竞争法)所对应的光信号带入校准曲线,计算得到的浓度为该项目的分析灵敏度。

1.4 统计学处理 所有数据均使用 Excel 2003 软件处理。

2 结果

2.1 精密度评价 批内以及总不精密度,见表 1。

表 1 Lica 光激化学发光免疫分析系统两对半检测不精密度

检测指标	批内不精密度(%)	总不精密度(%)
HbsAg (ng/mL)(H)	1.49	2.15
HbsAg (ng/mL)(L)	2.24	3.05
Anti-HBs(mIU/mL)(H)	1.98	2.69
Anti-HBs(mIU/mL)(L)	1.82	2.58
HBeAg(PEIU/mL)(H)	2.90	4.52
HBeAg(PEIU/mL)(L)	2.14	3.66
Anti-HBe(PEIU/mL)(H)	3.40	4.85
Anti-HBe(PEIU/mL)(L)	4.40	5.64
Anti-HBc(PEIU/mL)(H)	3.50	4.52
Anti-HBc(PEIU/ml)(L)	4.27	6.22

2.2 准确度评价 校准品浓度分别为 C1、C2、C3、C4、C5、C6,将其与样本 S1、S2、S3 做 1:1 混合(由于 C1 浓度为 0,故排除),检测前后浓度为 A 后,回收率计算公式为:回收率 = $|A_{后} - 0.5 * A_{前}| / (0.5 * C_n)$ ($n = 2, 3, 4, 5, 6$)。各样本与各校

* 基金项目:南京军区医药卫生科研基金资助项目(08MA076)。

[△] 通讯作者, E-mail: zhangymg@163.com。

准品混合检测,回收率见表 2。

表 2 各样本与校准品混合后回收率(%)

样本浓度	HBsAg	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBc
S1+C2	97.68	102.31	97.54	98.32	103.74
S1+C3	104.58	98.54	99.35	105.24	98.54
S1+C4	99.26	99.65	96.32	105.51	102.33
S1+C5	98.26	105.26	98.65	96.54	101.29
S1+C6	103.58	98.67	104.52	103.55	98.66
S2+C2	98.68	98.54	102.36	101.38	99.26
S2+C3	98.65	106.54	100.14	96.55	96.47
S2+C4	96.87	96.66	106.24	96.37	102.35
S2+C5	102.57	104.33	97.21	98.67	98.85
S2+C6	97.84	99.61	102.54	100.59	101.49
S3+C1	99.25	103.25	103.66	101.22	98.25
S3+C2	102.36	98.54	98.54	98.31	103.67
S3+C3	105.22	97.58	100.80	97.51	100.07
S3+C4	98.63	100.20	98.19	99.52	106.21
S3+C5	99.25	103.25	103.66	101.22	98.25
S3+C6	97.68	99.57	102.82	96.81	99.20

2.3 线性评价 先检测出高值与低值样本浓度,然后计算出各比例混合后预测值,将检测值和预期值之间做直线回归,各检测项目线性良好,斜率在 1.006~1.037 之间,相关系数 r^2 在 0.984~0.997 之间。

2.4 分析灵敏度 各项目分析灵敏度,见表 3。

表 3 各检测项目分析灵敏度(单位略)

检测指数	MEAN	SD	MEAN+2SD/ MEAN-2SD	分析灵敏度
HBsAg	511.45	53.11	617.67	0.04
Anti-HBs	764.00	90.56	945.13	1.72
HBeAg	269.55	17.57	304.69	0.09
Anti-HBe	110 909.35	2 356.68	106 195.99	0.31
Anti-HBc	119 652.70	5 5990.01	108 454.68	0.02

3 讨论

Lica 检测原理源于 90 年代问世的 LOCI(luminescent oxygen channeling immunoassay) 技术。该技术最初由 Ullman 等^[1]在 1994 年报道,从传统放射免疫分析和酶联免疫分析到化学发光免疫分析,固相载体也由包被管、厘米水平包被珠发展到微米级磁珠。而 Lica 技术采用了纳米级颗粒,这不仅大大增加了生物分子的包被面积,同时借助于链霉菌素-生物素分子连接放大系统,使单位体积反应体系中含有更高浓度的生物分子,为实现超高灵敏度、减少样本和试剂用量奠定了基础^[2];另外,这种纳米颗粒在液相中保持稳定的悬浮状态,实现均相、免清洗检测^[3]。目前,国内实验室使用光激化学发光系统进行乙肝“两对半”的定量检测已经大量进入临床,并在其他

领域得到广泛应用^[4-5]。本文通过各种对上海博阳生物科技 Lica 光激化学发光免疫分析系统及配套乙肝“两对半”定量检测试剂进行了初步评价。

从本文得出的结果显示,该系统有较好的重复性,总不精密度控制在 2.15%~6.22%,达到了国外同类型检测系统水平(参照雅培化学发光 ARCHITECT i2000SR 乙肝试剂盒说明书所列数据)。由于目前缺乏有效的实验室室间比对手段和能力验证方式,故本文通过标准品的回收试验来验证其准确性,回收率为 96.32%~106.54%,实验结果较为满意。从线性及灵敏度试验结果来看,在所涉及到的范围内,线性良好(斜率 0.95~1.05, $r > 0.975$),确保高值样本能够在稀释的条件下,得到准确结果。而分析灵敏度试验也证实了该检测系统的敏感性。加样的独立性及一次性使用的吸样头避免了交叉污染的可能。

本次性能评价未能进行干扰物质的影响研究,有报道该方法对可能存在的干扰物质,如单线态氧淬灭物质(过渡金属元素、抗氧化剂、血红蛋白、维生素 C 等)、生物素结构类似物、总胆红素、三酰甘油等具有较好的耐受能力,在常规浓度情况下,这些干扰作用可以忽略不计,表现出较高的特异性^[6-8]。

总之, Lica 以其独特的检测技术实现了常规检测中免冲洗、免分离,具有高灵敏度、低本底、目标分子多样性、可检测低亲和力分子、高通量、高稳定性等特点,能够较好满足临床需求。

参考文献

- [1] Ullman EF, Kirakossian H, Singh S, et al. Luminescent oxygen channeling immunoassay: measurement of particle binding kinetics by chemiluminescence[J]. Proc Natl Acad Sci, 1994, 91: 5426-5430.
- [2] Kricka LJ. Clinical applications of chemiluminescence[J]. Anal Chim Acta, 2003, 500: 279-286.
- [3] Ullman EF, Kirakossian H, Switchenko AC, et al. Luminescent oxygen channeling assay (LOCITM): sensitive, broadly applicable homogeneous immunoassay method[J]. Clin Chem, 1996, 42: 1518-1526.
- [4] 黄永富,黄介飞,丛辉,等. 时间分辨荧光免疫分析法检测乙型肝炎血清标志物的分析方法性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 543-547.
- [5] Li Y, Choi M, Cavey G, et al. Crystallographic identification and functional characterization of phospholipids as ligands for the orphan nuclear receptor steroidogenic factor-1[J]. Mol Cell, 2005, 17(9): 491-502.
- [6] 马宏伟,赵卫国,潘柏申. 血清心肌肌钙蛋白 I 光激化学发光免疫测定法的建立[J]. 检验医学, 2007, 22(4): 398-401.
- [7] Poulsen F, Jensen KB. A luminescent oxygen channeling immunoassay for the determination of insulin in human plasma[J]. J Biomol Screen, 2007, 12: 240-247.
- [8] 阚利娜,顾逸敏,赵卫国. β -人绒毛膜促性腺激素光激化学发光免疫分析方法的建立[J]. 检验医学, 2010, (10): 779-783.