

时,还要注意涂片的厚薄问题。当尿沉渣有形成分较多时,推片角度要小一点,推片速度要快一点;当尿沉渣有形成分较少时,推片角度要大一点,推片速度要慢一点。这跟制作血涂片是一致的。如此处理之后就会得到比较理想的尿沉渣涂片。

此外,尿中红细胞形态容易受到尿液 pH 值、尿比重以及渗透压等理化因数的影响。因此,该实验有 1 例肾小球疾病患者呈现均一性血尿,3 例非肾小球疾病患者呈现出非均一性血尿以及 2 例非肾小球疾病患者呈现出混合性血尿。可见分析尿中红细胞形态判断血尿来源时应该结合临床症状和其他检查结果。

通过对河北港口集团有限公司港口医院 280 例血尿患者进行尿沉渣涂片瑞氏-姬姆萨染色分析红细胞形态发现肾小球疾病患者异形红细胞百分率为 $(88.6 \pm 10.2)\%$,非肾小球疾病患者异形红细胞百分率为 $(20.1 \pm 16.5)\%$,二者之间的差异有统计学意义($P < 0.01$),说明通过对尿沉渣涂片进行瑞氏-姬姆萨染色分析红细胞形态可判断血尿来源。该方法的特异性为 96.3%,灵敏性为 99.3%,临床诊断总符合率为 97.1%,各参数指标都比较理想,说明该方法是鉴别血尿来源的理想方法。该法在油镜下观察染色后的红细胞比尿沉渣直接进行红细胞形态分析的方法更清晰可辨,降低了红细胞形态分析的难度,而且操作简单、成本低廉,值得在基层医院推广使用。

参考文献

[1] 孙文洪. 外周血和尿液红细胞平均体积差值在血尿定位诊断中的

• 检验技术与方法 •

应用[J]. 检验医学与临床,2011,17(8):2068-2069.

[2] 丛玉隆,马骏龙. 几种检测尿红细胞方法的 价值与互补关系[J]. 中华检验医学杂志,2002,25(5):208.

[3] 鲁由金,鲁娟. 尿沉渣染色镜检在临床应用中的意义[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(7):671.

[4] 王永才,张蕾,赵成艳,等. 尿红细胞形态学观察对血尿来源诊断的研究应用[J]. 中国实验诊断学,2009,13(2):267-271.

[5] 李清,肖青,苗春霞,等. 血尿患者自身血和尿平均红细胞容积及其比值在血尿来源鉴别中的价值[J]. 临床合理用药,2011,04(1):24-25.

[6] 王海燕. 肾脏病学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1996:282.

[7] 邢占山. 2 种方法鉴别血尿来源的分析[J]. 中国伤残医学,2011,19(6):71-72.

[8] 李建珍,张玉琴,衡玲华. SYSMEX KX-21 对尿红细胞形态的分析鉴别血尿来源的探讨[J]. 山西医药杂志,2009,38(9):854.

[9] 曹研,牛华,董云华,等. 尿液红细胞多种检测方法在肾性疾病诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(10):867-869.

[10] 成宇. 两种尿沉渣检测法诊断肾小球性血尿特异性与敏感性比较[J]. 中国乡村医药杂志,2012,19(2):59-60.

(收稿日期:2013-04-02)

ELISA 试验结果抗溶血干扰的临床应用研究*

黄 芳,王碧玉

(广西桂林市人民医院检验科,广西桂林 541002)

摘 要:目的 探讨样本溶血时,采用 ELISA 试验结果抗溶血干扰的方法在临床实验中的应用价值。**方法** 以检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)为例,以时间分辨荧光免疫分析法(TRFIA)定量检测的结果为标准选择标本,将标本分为 3 组:临界组、弱阳性组、阳性组。将 3 组标本人为做成轻、中、重度溶血,对这 3 组标本分别采用 ELISA 试验结果抗溶血干扰的方法进行实验,探讨其临床意义。**结果** 经抗溶血干扰后,临界组的轻度溶血标本实验结果都得到纠正,中度溶血标本 88% 的实验结果都得到纠正,重度溶血标本实验结果均未得到纠正;弱阳性组及阳性组标本溶血后对实验结果的判断无影响,无需纠正。**结论** ELISA 试验结果抗溶血干扰的方法对于临界值的标本在轻、中度溶血时可以起到纠正溶血干扰的作用,当溶血标本的实验结果为弱阳性时,要考虑是否溶血引起的干扰。

关键词:时间分辨荧光免疫分析法; 酶联免疫吸附测定; 肝炎表面抗原,乙型; 溶血; 抗干扰

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.041 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)20-2725-03

标本溶血对 ELISA 试验结果的影响已有较多研究报导^[1-6],但就如何抗干扰的研究报导较少,作者以检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)为例,采用 ELISA 实验结果抗溶血干扰的方法针对不同程度溶血的标本进行实验,探讨其临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2011 年 1~6 月门诊及住院患者乙型肝炎 5 项指标定量检测的标本,以时间分辨荧光免疫分析技术(TRFIA)定量检测结果为标准,选择无溶血、脂血、黄疸的

不同浓度的标本。临界组标本 75 例,男性 34 例,女性 41 例;年龄 12~64 岁,平均 37 岁。弱阳性组标本 90 例,男性 54 例,女性 36 例;年龄 22~49 岁,平均 31 岁。阳性组标本 90 例,男性 51 例,女性 39 例;年龄 25~47 岁,平均 32 岁。

1.2 试剂及仪器 上海科华生物技术股份有限公司生产的乙肝 5 项指标定性 ELISA 诊断试剂盒, Hb 检测采用法国 ABXP-60 全自动血球分析仪及配套试剂和质控品,深圳雷杜生命技术有限公司提供的雷杜 RT-6100 型酶标仪,上海新波生物有限公司提供的 EGATE2310 全自动微孔洗涤机。

* 基金项目:桂林市科技局基金资助项目(20110216)。

1.2 方法 以 TRFIA 检测 HBsAg 的结果为标准,选择 HBsAg 浓度为 0 ng/mL 的样本(无溶血、脂血、黄疸),吸取血清作为基质液。将余下样本放置-30℃冰箱 6 h,取出放 37℃水浴箱 30 min,再以 3 000 r/min 离心 10 min 制成溶血液,用基质液把溶血液稀释成 6、12、24 g/L 3 种浓度,采用法国 ABXP-60 全自动血球分析仪检测稀释后溶血液中 Hb 浓度。试验时每例样本吸取 400 μL 血清分别加入 4 个干燥试管内,每管 100 μL;第 1 管加入基质液 100 μL,其余 3 管分别加入 3 组不同浓度溶血液各 100 μL 混匀,采用法国 ABXP-60 全自动血球分析仪检测混匀后样本中 Hb 浓度,根据 Hb 的浓度分为 3 个组:轻度溶血组(Hb 浓度 2~4 g/L);中度溶血组(Hb 浓度 5~8 g/L);重度溶血组(Hb 浓度大于 8 g/L),以此制备受 3 种不同溶血程度干扰的样本。试验时对 3 组受溶血干扰样本均设两个孔:一个为试验孔,该孔内不加酶结合物,只加溶血血清、底物液、显色剂、终止液;另一个为溶血样本孔,该孔内加

入溶血血清和酶结合物、底物液、显色剂、终止液。每批试验均设空白孔,阴性对照孔,阳性对照孔,严格按试剂说明书进行操作。

1.4 结果判断 溶血前和试验孔及溶血后样本孔样本孔:S/CO 值=样本 OD 值/阴性对照孔 OD 值×2.1,≥1.0 判为阳性,<1.0 判为阴性。纠正后溶血样本孔:S/CO 值=(溶血后样本孔 OD 值-抗干扰试验孔 OD 值)/阴性对照孔 OD 值×2.1,≥1.0 判为阳性,<1.0 判为阴性。

1.5 统计学处理 全部数据用 SPSS 11.0 软件包进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两样本间均数比较用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

3 组不同浓度的标本溶血前后及纠正后的实验结果见表 1~3。

表 1 临界组不同溶血程度样本溶血前后及纠正后 S/CO 值比较(*n*=25)

临界组	轻度溶血		中度溶血		重度溶血	
	S/CO	假阳性例数(<i>n</i>)	S/CO	假阳性例数(<i>n</i>)	S/CO	假阳性例数(<i>n</i>)
溶血前	0.89±0.10	0	0.89±0.10	0	0.89±0.10	0
溶血后	0.96±0.21	10	1.72±0.45*	17	3.75±1.72*	25
纠正后	0.86±0.13	0	0.95±0.35	2	2.04±1.13*	25

*:*P*<0.05,与溶血前比较。

表 2 弱阳性组不同溶血程度样本溶血前后及纠正后 S/CO 值比较(*n*=30)

临界组	轻度溶血		中度溶血		重度溶血	
	S/CO	假阴性例数(<i>n</i>)	S/CO	假阴性例数(<i>n</i>)	S/CO	假阴性例数(<i>n</i>)
溶血前	5.86±2.51	0	5.86±2.51	0	5.86±2.51	0
溶血后	7.84±2.82*	0	8.11±2.79*	0	8.53±2.80*	0
纠正后	7.77±2.84*	0	8.00±2.81*	0	8.25±2.61*	0

*:*P*<0.05,与溶血前比较。

表 3 阳性组不同溶血程度样本溶血前后及纠正后 S/CO 值比较(*n*=30)

临界组	轻度溶血		中度溶血		重度溶血	
	S/CO	假阴性例数(<i>n</i>)	S/CO	假阴性例数(<i>n</i>)	S/CO	假阴性例数(<i>n</i>)
溶血前	13.58±4.46	0	13.58±4.46	0	13.58±4.46	0
溶血后	26.53±3.20*	0	27.65±1.50*	0	27.12±1.09*	0
纠正后	25.90±2.90*	0	26.76±1.32*	0	26.55±0.94*	0

*:*P*<0.05,与溶血前比较。

3 讨论

ELISA 检测 HbsAg 灵敏度高、特异性强、操作简便,广泛应用于各级临床实验室。然而在实际工作中,常会遇到不同程度的溶血标本。标本溶血对 ELISA 检测 HbsAg 的影响各文献已有较多报道^[1-8],且不尽相同,但在如何抗溶血干扰的方面较少提及,最终均认为溶血标本不适于该实验,建议重新抽血。但对于一些无法避免的溶血性疾病以及无法重新获取血源的情况,如何消除溶血对试验结果的影响,本文采用增设试验孔的方法应用于临床实验,结果显示:(1)标本溶血对临界组的影响最大,产生不同程度的假阳性率,且与溶血的程度呈正比,纠正的效果与溶血的程度呈反比。其中临界组中,轻度溶血造成假阳性有 10 例,纠正 10 例;中度溶血假阳性 17 例,纠正 15

例;重度溶血假阳性 25 例,均未能纠正。溶血造成的干扰与孙艳霞^[5]在阴性溶血标本组中的报导类似,但其改进方法只提及改进方法(一步法改为二步法)以及使用洗板机避免手工洗板。本文方法在轻度及中度溶血时起到了较好的抗溶血干扰的作用,仅重度溶血未能起到纠正作用。(2)标本溶血对弱阳性组的定性判断无影响,这与孙艳霞^[5]的研究数据有一定差异,可能与标本的选择及实验的分组不同有关。(3)标本溶血对阳性组的定性结果判断无影响。汤春园等^[9]提出 ELISA 检测 HB-sAg 的影响因素除了样本的因素(包括溶血)之外,还有试剂盒的选择和质检以及实验操作中的问题等,对于浓度较高的样本一般能得出正确结果,但对于低浓度的样本,则容易产生错误的结果。这与本文的研究结果较一致,临界组的标本受溶血因

素干扰较大,而阳性组标本溶血时对检测结果的判断无影响。HbsAg 弱阳性的标本,其检测结果的准确性与实验方法的选择存在一定的争议^[10],因此用 ELISA 检测 HBsAg 时,减少标本因素的影响及其重要。本文方法操作简便与实验可同步进行,无需额外的试剂及仪器。临床常见的溶血标本多为轻度溶血,当其检测结果为弱阳性时,采用本文提出的方法可消除溶血造成的干扰,提高实验结果的准确性,避免患者重新抽血带来的痛苦,使患者能得到及时准确的诊断和治疗,在临床实验诊断中具有重要的应用价值。

参考文献

- [1] 吴丽娟. 溶血标本对 ELISA 检测乙肝表面抗原的影响[J]. 赤峰学院学报:自然科学版,2012,28(3):62.
- [2] 李建华,王万仓. 溶血和带血细胞标本对 HBsAg 结果的影响[J]. 检验医学和临床杂志,2008,9(18):1122-1123.
- [3] 陈志坚,梁余莉. 标本溶血对 ELISA 检测乙肝表面抗原的影响[J]. 广西医学,2006,28(9):1437.

• 检验技术与方法 •

- [4] 牛利茹,毕亚丽,李金伟. 血标本溶血对检测结果的影响及防范对策[J]. 临床误诊误治,2005,18(9):691-692.
- [5] 孙艳霞. 简要分析标本溶血对 ELISA 检测乙肝表面抗原的影响[J]. 标记免疫分析与临床,2009,16(4):253-254.
- [6] 黎学东. 带血球的标本对 ELISA 一步法检测 HBsAg 的影响[J]. 中国实用医药,2012,7(11):116-117.
- [7] 周萍. 溶血标本对 ELISA 法检测 HBsAg 结果的影响及消除对策[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(7):668.
- [8] 陆仁飞. 溶血标本对乙型肝炎病毒表面抗原检测结果的影响[J]. 检验医学与临床,2008,5(17):1065.
- [9] 汤春园,陈栋,李山,等. ELISA 法检测 HBsAg 弱阳性标本的问题探讨[J]. 应用预防医学,2007,13(6):375-377.
- [10] 欧阳清,刘健,石青峰,等. 3 种方法检测 HbsAg 弱阳性结果的比较[J]. 广西医学,2010,32(3):298-299.

(收稿日期:2013-02-18)

Bland-Altman 分析法在临床检验方法比较的实例应用和绘图介绍

李荣娟¹, 苏武锦^{2△}

(1. 广西壮族自治区职业病防治研究院,广西南宁 530021;2. 南宁中心血站,广西南宁 530003)

摘要:目的 通过实例介绍 Bland-Altman(简称 B-A)方法在一致性评价中的应用和绘图方法。方法 罗氏生化原装检测系统为 M1 系统,自建检测系统为 M2 系统,两种检测系统分别对 50 份新鲜的血清样本进行一次测定,实验数据应用 BA 分析法进行评估分析。结果 实例分析中,应用 BA 分析法,结合 CLIA 室间评估指标分析,葡萄糖的允许误差限值为 $T \pm 10\%$,这种差异是可接受的,可认为这两种系统具有较好的一致性;而按照 6 西格马质量管理的要求,4.5 西格马偏倚要求葡萄糖的允许误差限值为 $T \pm 2.5\%$,这种差异还需要改善。结论 BA 法在评价一致性的时既考虑了随机误差同时也考虑了系统误差对一致性的影响,同时可结合专业意义进行判断,具有独特的优势。

关键词:一致性评价; Bland-Altman 法; 系统误差

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)20-2727-03

临床检测中,常会遇到更换检验方法、检验仪器、新的检验技术引入实验室中,需对两种检测系统所得结果的一致性进行评价,以保证新旧检测系统测量结果的一致性、等价性或可交换性。评估的方法有配对 t 检验、相关分析、回归方法、BA 分析法(简称 B-A 法)等,因为配对 t 检验与简单相关分析具有明显的片面性,不能同时兼顾随机误差与系统误差,用它们评价一致性所得的结论可能是误导的^[1],目前临床上,如生化项目、离子项目、自建系统及试剂评估等常使用美国临床和实验室标准协会(CLSI)系列文件之利用患者样本进行方法对比及偏差评估-批准指南第 2 版(EP9-A2)文件的要求对两系统间的检测结果进行比对分析,而 BA 方法是用于评价两种测量一致性的标准方法^[2-3],在评价两种测量一致性时,并未被广泛采用^[4]。本文以两种不同分析系统为例,利用 Bland-Altman 法对血糖项目的一致性评价进行了评估,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 总共 50 名个体参与此项评估,男性 29 名,女性 21 名。受试者随机挑选于本院门诊抽血病患,抽血后 30 min 内离心,随后使用全自动检测系统血糖浓度测定。

1.2 仪器与试剂 罗氏生化原装检测系统:罗氏 Cobas P800

全自动生化分析仪、罗氏 Cobas 葡萄糖试剂测定试剂盒(氧化酶法)、罗氏 Cobas 校准品组合为 M1 系统。自建检测系统:日立 7080 全自动生化分析,上海科华葡萄糖试剂(GLU)测定试剂盒(氧化酶法)、朗道校准品组合为 M2 系统。

1.3 方法

1.3.1 方法的选择 以 M1 系统作为比较的检测系统,M2 为待评价系统,两检测系统可重复性良好为前提。

1.3.2 样本测定 两种检测系统分别对 50 份新鲜的血清样本进行一次测定。

1.3.3 BA 分析法^[2-3] (1)一致性界限:使用两种系统检测结果的差值的均数进行偏倚(bias)估计,使用 Sd 描述 $\bar{d}$ 的变异情况,取 $a=0.05$,差值 $\bar{d}$ 的 $(1-a)=95\%$ 的一致性界限则为 $(-1.96Sd, +1.96Sd)$ 。如图 1 中上下两条水平线代表 95% 一致性界限的上下限,中间实线代表差值的均线,虚线代表差值均数为 0($Y=0$)的情况。当代表均线的实线靠近虚线($Y=0$)时,表明两组测量数据的平均值差别较小,两种测量方法的系统误差较小,有 95% 的点都在一致性区间内而且在临床上可以接受的,则可以认为这两种方法具有较好的一致性,这两种方法可以互换使用。(2)用差值进行 BA 分析:BA 图以图形

△ 通讯作者,E-mail:35893139@qq.com。