

点,但尿中有形成分十分复杂,形态大小不一存在许多干扰因素,当尿液中存在某些大小、形状与白细胞相似的物质时(如上皮细胞、小圆上皮、结晶等),会出现假阳性结果,体积较大的酵母菌、部分管型存在时,使 UF-1000i 全自动尿有形成分分析仪测定的尿白细胞结果偏高,这与许多文献报道[6-7]较一致。本研究中共发现 30 例 UF-1000i 检测白细胞假阳性,其中小圆上皮细胞增多占 UF-1000i 假阳性例数的 50%,鳞状上皮细胞和肾小管上皮细胞占 30%,结晶占 13.33%,存在大体积类酵母菌占 6.67%。

AX-4280 尿干化学分析仪的白细胞检测原理为白细胞酯酶法,粒细胞质内含有酯酶,可作用于试带模块中的吲哚酚酯,从而释放出吲哚酚,后者与重氮盐反应生成紫色络合物。白细胞中以中性粒细胞含酯酶最多,单核细胞次之。尿干化学分析仪检测出现假阴性的尿液,多数为肾移植、肾炎、慢性扁桃体炎、上呼吸道感染等患者的尿样。在肾移植患者发生排斥反应时,尿中以淋巴细胞为主,或其他病因引起的淋巴细胞尿会产生假阴性的结果^[8]。高蛋白、高密度尿、尿中大量葡萄糖或含有大剂量头孢菌素、庆大霉素等药物时,亦可使结果偏低或出现假阴性^[9]。本研究共发现 74 例尿干化学假阴性,尿液镜检主要是淋巴细胞,尿白细胞聚集成团,此外或许与大剂量抗菌药物的使用相关。当尿蛋白增高出现管型,或是尿液中含大量维生素 C 时也可造成假阴性。

综上所述,尽管 UF-1000i 全自动尿有形成分分析仪及尿干化学分析仪能快速、准确检测尿中多项参数,但由于干扰因素较多,易出现假阳性或假阴性的结果,所以只能作为快速筛选,实验室确定复检规则,可提高工作效率及检验质量。当 UF-1000i 全自动尿有形成分分析仪及干化学结果一致阴性时,不需要做显微镜镜检;当二者不符或任一项出现阳性结果

• 检验技术与方法 •

透射比浊法和散射比浊法测定免疫球蛋白和补体的评价

曾 华¹, 罗 玲¹, 何桂儿², 罗晓红^{1△}

(1. 中山大学孙逸仙纪念医院检验科, 广东广州 510120; 2. 广州市番禺区何贤纪念医院, 广东广州 511400)

摘 要:目的 对同一临床实验室分别采用透射比浊法和散射比浊法检测血清中免疫球蛋白和补体含量,对其检测结果偏差进行评价。方法 采用美国临床实验室标准化协会(CISI)Ep 9-A2 中方法,以散射比浊法为比较方法,透射比浊法为实验方法,对临床样本进行检测免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)、补体 3(C3)、补体 4(C4)含量,将检测的结果进行统计与相关分析,对两种方法之间的预期偏差,相关性和精密度进行评估与分析。结果 两种方法检测 IgG、IgA、IgM、C3、C4 结果具有良好的相关性,相关系数分别为 0.994、0.990、0.994、0.993 和 0.999,各浓度所测定的结果预期偏差在可接受的范围内;透射比浊法检测 IgG、IgA、IgM、C3、C4 精密度 CV 均比散射比浊法小。结论 透射比浊法与散射比浊法所测定的结果基本一致,均能保证实验结果的准确性和精密度,且透射比浊法测定结果精密度比散射比浊法好,能更好的保证实验结果的重复性。

关键词:透射比浊法; 散射比浊法; 免疫球蛋白; 补体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)20-2733-02

目前,我国临床实验室检测血清免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM,以及补体 C3、C4 所采用的方法主要有透射比浊法和散射比浊法两大类。透射比浊法在全自动化生化分析仪上进行测定,而散射比浊法在特定蛋白分析仪上进行检测。由于两种检测方法测定的原理和使用的仪器及配套的试剂不同,其检测的结果有可能存在一定的差异。本文根据美国临床实验室标准化协会(CISI)Ep 9-A2 要求,对日立 7600 全自动化生化分析仪配套 Roche 公司试剂盒和 Dade Behring BN II 特定蛋白仪配

时,需要显微镜镜检以确认。3 种方法联合检测尿液白细胞在泌尿科男性患者中有一定的临床应用价值,掌握规律并合理应用,在临床检验工作中,可避免漏检,即能省时、省力,又可保证质量。

参考文献

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜,等.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:293-294.
- [2] 丛玉隆,马骏龙,张民,等.现代尿液分析技术与临床[M].4 版.北京:人民军医出版社,2007:57.
- [3] 熊立凡,刘成玉.临床检验基础[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2007:172.
- [4] 薛冰蓉,杨渝伟,陈曦,等. UF-1000i 尿沉渣分析仪检测尿红细胞、白细胞影响因素的探讨[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(11):1223-1225.
- [5] 张广波,周立杰,曹笠. UF-1000i 尿沉渣分析仪和尿干化学分析仪与显微镜检查在尿路感染中应用评价[J]. 医学综述,2011,17(20):158-160.
- [6] 刘常军,刘婷,董玲,等. UF-1000i 尿沉渣分析仪假阳性结果分析[J]. 首都医科大学学报,2012,33(2):158-160.
- [7] 丛玉隆,马骏龙. 尿液有形成分镜检与自动化检测方法学利弊和互补分析[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(6):609.
- [8] 丛玉隆,马骏龙. 尿液干化学分析与显微镜检查[J]. 中华医学检验杂志,1997,20(3):135-137.
- [9] 丛玉隆,杨明,马骏龙,等. 体液及寄生虫检验技术与临床[M]. 天津:天津科学技术出版社,2000:36.

(收稿日期:2013-06-25)

套西门子子公司试剂盒检测 IgG、IgA、IgM、C3、C4,结果进行方法比较与评估。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 Dade Behring BN II 特定蛋白仪,西门子子公司配套试剂及校准品,采用散射比浊法;日立 7600 全自动化生化仪, Roche 公司配套试剂及校准品,采用透射比浊法。

1.2 研究对象 2010 年 12 月至 2011 年 2 月在中山大学孙逸仙纪念医院就诊的患者或健康体检者共 120 例,年龄介于 6~

△ 通讯作者, E-mail: luoxhong@mail.sysu.edu.cn.

70 岁之间,性别随机抽取,所选的样本浓度的选择符合(CISI)Ep 9-A2 中要求,尽量覆盖 IgG、IgA、IgM、C3、C4 各浓度水平;同时排除乳糜及严重溶血样本。

1.3 统计学处理 根据(CISI)Ep 9-A2 文件,以散射比浊法为比较方法,透射比浊法为实验方法,对两种方法测得的数据进行对比与偏差评估。(1)IgG、IgA、IgM、C3、C4 每个样本测定结果的均值为 X_i 和 Y_i ,样本重复检测值的绝对值(D_{xi} 和 D_{yi}),两种方法测定结果均值间的差值($Y_i - X_i$);(2)离群点的剔除:计算样本重复测定值差值绝对值的平均值和两种方法测定结果均值间差值的平均值,超出上述平均值 4 倍时为离群值,应该剔除;(3)以 Y_i 对 X_i 做散点图,以 $(Y_i - X_i)$ 对 X_i 做偏差图,得到个项目的散点图和偏差图;(4)计算这两种方法的线性相关系数并且进行回归方程分析,根据 IgG、IgA、IgM、C3、C4 的线性回归方程,评估两种方法的预期偏差和相对偏差;(5)根据美国临床实验室修正法规,两种方法学比较的系统误差不大于允许误差则判定系统稳定,该状态的系统误差为可接受,反之则不可以接受;(6)重复性试验:取 IgG、IgA、IgM、C3、C4 高中低值 3 份混合血清,每份样本用两种方法重复测定 10 次,计算精密度,以 CV 表示。

2 结 果

2.1 双份平行检测结果 IgG、IgA、IgM、C3、C4 各 40 份样本双份平行检测结果见表 1、2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”),透射比浊法用(X_1, X_2 表示,散射比浊法用(Y_1, Y_2)表示。

2.2 相关性 根据美国临床实验室标准化协会(CISI)Ep 9-A2 中方法,制作透射比浊法和散射比浊法测定 IgG、IgA、IgM、C3、C4 的散点图。两种方法相关性良好。通过对其进行线性相关系数和回归分析见表 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.3 偏差评估 根据线性回归方程估算透射比浊和散射比浊的预期偏差和相对偏差见表 4(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.4 允许误差的比较 两种方法检测 IgG、IgA、IgM、C3、C4 测定的结果的预期偏差和相对偏差与医学确定水平的允许误差进行比较,结果表明:两种方法检测 IgG、IgA、IgM、C3、C4 各浓度水平预期偏差可以接受。

2.5 重复性 两种方法检测 IgG、IgA、IgM、C3、C4 重复性好, CV 均值均小于 6%,且各浓度水平透射比浊法的 CV 均值均小于散射比浊法,说明透射比浊法的重复性优于散射比浊法。见表 5(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

3 讨 论

透射比浊法和散射比浊法都是检测免疫球蛋白和补体的经典方法,散射比浊法是一种微量、快速、自动化检测液体中特定蛋白质成分的免疫化学分析技术,该技术是将免疫测定与散射比浊法的原理相结合而设计的一种快速免疫测定方法,主要用于对液体中特定蛋白成分的测定;而透射比浊法在最近的 10 年间变得更受欢迎^[1-2],逐渐替代散射比浊法,适用于常规的临床化学分析仪,是因为其在以下几点做了改进。(1)应用乳胶增强颗粒技术。将抗体通过吸附或化学连接方式结合在颗粒上,大颗粒乳胶包被高反应性抗体,可提高分析灵敏度,如 C 反应蛋白;小颗粒乳胶包被低反应性抗体,通过扩展其检测范围来提高其灵敏度,如 IgA、IgM。(2)做多点校准并用非线性拟合。用多点已知浓度并且呈微小间隔的校准品,可将标准曲线拟合成接近真实的反应曲线。(3)由于免疫复合物、免疫

球蛋白聚集、脂蛋白以及胆红素或游离血红蛋白等都可对光散射或光透射分析结果产生干扰。而免疫透射比浊法所采用的全自动生化分析仪可联合应用双波长检测,样本自动稀释,与样本空白对照检测,有助于最小化这些因素对检测的影响。因此,免疫透射比浊法的抗干扰能力较强^[3-4]。

目前检验医学已经实现自动化、规范化,对这两种方法检测结果的一致性和优越性进行比较与评估,需要对不同的检测系统作相关性分析^[5]。因此本文通过(CISI)Ep 9-A2 文件中的要求对两种方法检测 IgG、IgA、IgM、C3、C4 的一致性进行评估与分析。

本研究发现,两种方法检测各浓度水平 IgG、IgA、IgM、C3、C4 的相关性良好,说明两种检测方法结果具有可比性。C3、C4 低浓度样本偏差不可接受,相对偏差分别为 14% 和 11.4%,其他项目各浓度样本偏差均值可接受范围内,说明两种方法偏差小,结果保持一致。两种方法检测 IgG、IgA、IgM、C3、C4 预期偏差值为负数,说明透射比浊法检测值一般小于散射比浊法检测值,特别在低浓度样本时,相对偏差较大,C3、C4 可达到 14% 和 11.4%,这与陈智平等^[6]研究一致,可能的原因是低浓度的样本形成抗原抗体复合物较少,无法阻挡光线通过比色杯,因此在检测低浓度水平 IgG、IgA、IgM、C3、C4,建议使用散射比浊法。通过精密度试验数据可知,两种方法精密度试验均符合要求,除检测低值的 IgG 项目外,透射比浊法 CV 值均小于散射比浊法,说明透射比浊法与比散射比浊法相比具有更好的重复性和稳定性。推测可能的原因是全自动化分析系统更加稳定,重复加样更加准确,故检测结果 CV 值更小。

虽然透射比浊法在检测低浓度样本时测定值偏小,但是目前乳胶增敏技术已经被广泛应用且日益成熟化,乳胶增敏技术可以大范围提高试剂的灵敏度^[7],有利于抗原抗体复合物的形成,同样可以满足试验需求。透射比浊法在全自动生化分析仪开展进行,因此具有检测样本速度更快,有利于临床检验者节省时间,同时更快的提供检测结果,是一项值得推广的应用技术。

参考文献

- [1] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海:上海科学技术文献出版社,2007:111-116.
- [2] 张汉园. 透射比浊法和速率散射免疫比浊法测定 C-反应蛋白的比较[J]. 江苏大学学报:医学版,2004,8(4):349-350.
- [3] Nasir NM, Thevarajah M, Yean CY. Hemoglobin variants detected by hemoglobin A1c (HbA1c) analysis and the effects on HbA1c measurements[J]. Int J Diabetes Dev Ctries, 2010, 30(2): 86-90.
- [4] Aubailly L, Drucbert AS, Danzé PM, et al. Comparison of surface plasmon resonance transferrin quantification with a common immunoturbidimetric method[J]. Clin Biochem, 2011, 44(8/9): 731-735.
- [5] 陈捷,王兰兰,李立新,等. 根据 NCCLS EP9-A2 评价 2 种发光免疫分析法的一致性[J]. 临床检验杂志,2006,24(3):169-171.
- [6] 陈智平,伍惠玲,陈志坚,等. 透射和散射比浊法测定血清免疫球蛋白 IgG 的对比分析[J]. 应用预防医学,2010,16(5):308-310.
- [7] 有军,朱胜益,益敏. 血清 C-反应蛋白动态观察的初步探[J]. 上海医学检验杂志,2000,15(11):104.