

• 质控与标规 •

## 总 IgE 定量标记免疫分析试剂盒行业标准的验证\*

孙楠, 于婷, 刘艳, 王玉梅, 高尚先<sup>△</sup>

(中国食品药品检定研究院卫生部生物技术产品检定方法及其标准化重点实验室, 北京 100050)

**摘要:**目的 对总 IgE 定量标记免疫分析试剂盒行业标准可行性进行验证。方法 按照拟定行业标准的有关要求, 选择不同免疫分析方法的试剂盒, 进行验证。结果 外观、空白限、线性、准确度、精密度、稳定性等指标符合要求, 特异性项目中有个别试剂盒对 IgM、IgG 的测定结果高于行业标准要求。结论 总 IgE 定量标记免疫分析试剂盒行业标准制定合理, 有助于规范此类试剂盒的技术要求和实验方法, 从而提高此类试剂盒的产品质量, 并为其监管提供依据。

**关键词:**总免疫球蛋白 E; 免疫分析试剂盒; 行业标准

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.18.043

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2014)18-2523-03

## The verification of industry standard for total IgE quantitative labelling immunoassay kit\*

Sun Nan, Yu Ting, Liu Yan, Wang Yumei, Gao Shangxian<sup>△</sup>

(National Institutes for Food and Drug Control, the Key Laboratory of Biotechnology Product Test Method and Its Standardization of the Ministry of Health, Beijing 100050, China)

**Abstract:** **Objective** To verify the industry standard for total IgE quantitative labelling immunoassay kit. **Methods** Different methods of kits were used and were verified in accordance with industry standard. **Results** The appearance, limit of blank, linearity, accuracy, precision and stability could meet requirements, while specificity of individual kits was just partly qualified. **Conclusion** The establishing of the industry standard for total IgE quantitative labelling immunoassay kit was reasonable, which could help to standardized the experimental methods and technical requirements and promoted the improvement of quality, and offer the basis for the administration.

**Key words:** total immunoglobulin E; immunoassay kit; industry standard

最近 40 年, 全世界变态反应性疾病的发病率都在加速增长<sup>[1]</sup>, IgE 作为一种免疫球蛋白, 在变态反应性疾病的发生和发展过程中起着至关重要的作用<sup>[2]</sup>。IgE 主要由呼吸道、消化道黏膜固有层淋巴组织中的 B 细胞合成, 为 I 型变态反应的介导因素。IgE 在健康者血清含量极低, 为 10~100 IU/mL。过敏患者及寄生虫患者血清 IgE 含量显著高于健康者<sup>[3]</sup>。1967 年首次建立了 IgE 抗体的免疫检测方法, 但由于灵敏度和特异性低于皮肤试验, 尤其是 cutoff 值如何设定以区分正常值和异常值, 引起某些争论。近年来, 随着免疫检测方法的发展, IgE 可以定量检测并在临床应用上有重要意义<sup>[4]</sup>, 适合于变态反应性疾病的筛选, 并对危险个体进行监测, 还可作为疗效评价的一种指标<sup>[5]</sup>。

目前, 在国家食品药品监督管理局取得医疗器械注册证的总 IgE 检测试剂盒有十几种, 普遍采用的是标记免疫分析技术, 主要包括酶联免疫吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、(电)化学发光标记免疫分析法 [(electro-)chemiluminescence immunoassay, CLIA]、荧光免疫标记分析法 (fluorescence immunoassay, FIA) 等<sup>[6]</sup>。但是该类没有统一的行业标准, 使得 IgE 检测的标准化和质量控制难以操作。按照国家局医疗器械标准制修订计划, 中国食品药品检定研究院提出并制定了总 IgE 定量标记免疫分析试剂盒行业标准, 本研究选择了 4 家不同方法的总 IgE 定量标记免疫分析试剂盒对拟定标准的技术指标和检验方法进行验证。

## 1 材料与方 法

**1.1 样本来源** 总 IgE 国际参考品 (75/502) 由 WHO 提供; IgA、IgG、IgM 由本室提供。

**1.2 仪器与试剂** 4 个厂家的总 IgE 定量标记免疫分析试剂盒 (A-E) 包括 3 种方法, 其中 A 试剂盒批号 16201203, B 试剂盒批号 257、258, 为 (电) 化学发光法 (CLIA); C 试剂盒批号 26023736T、27184453T、29496393T 为酶联免疫法 (ELISA); D 试剂盒批号 865684301、867918001、866710701 为免疫荧光法 (IF)。与试剂盒配套的检测仪器有: Thermo 酶标仪、Immulite 2000 XPi 化学发光免疫分析仪、Elecsys2010 全自动免疫分析仪、VIDAS 分析仪, 均由配套试剂盒的厂家提供。

## 1.3 方 法

**1.3.1 外观** 采用目测法, 在自然光线明亮处目视检查试剂盒各组分组成、性状; 内外包装、标签清晰等要求。

**1.3.2 空白限** 20 次平行测定零值校准品或样本稀释液的信号值, 计算平均数 ( $\bar{x}$ ) 与标准差 ( $s$ ), 并计算 ( $\bar{x} + 2s$ ) 的值, 此值对应的样本浓度为本试剂盒的空白限。

**1.3.3 线性** 将接近线性区间上限 1 000 IU/mL 的高值样本按一定比例稀释为 5 个浓度, 其中低值浓度的样本接近线性区间的下限 5 IU/mL。对每一浓度的样本重复测定 2 次, 计算其平均值, 将测定浓度的平均值与理论浓度用最小二乘法进行直线拟合, 并计算线性相关系数  $r$ 。

**1.3.4 准确度** 配制总 IgE 国际参考物质的浓度, 使其最终

\* 基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (2011AA02A115)。作者简介: 孙楠, 女, 主管技师, 主要从事体外诊断试剂相关研究。△ 通讯作者, E-mail: gaoshangxian@126.com。

浓度约为 100 IU/mL(浓度 1)、500 IU/mL(浓度 2),按照说明书的操作步骤平行测定 3 次,计算相对偏差,3 次结果均应符合要求。

**1.3.5 精密度** 用同一批号试剂盒,对不同浓度的质控品分别测定 10 次,计算测定结果的平均值和标准差,得到批内精密度;用 3 个不同批号试剂盒,对不同浓度的质控品分别测定 10 次,计算测定结果的平均值和标准差,得到批间精密度。

**1.3.6 特异性** 用各试剂盒缓冲体系,将特异性样本 IgA、IgG、IgM 均配制成 100 μg/mL 的浓度,测定 1 次,得到 IgE 的浓度。

**1.3.7 质控品测定值** 重复测定各试剂盒配备的定值质控品,计算测定结果的均值,其测定结果应在试剂盒规定的范围内。

**1.3.8 稳定性** 将试剂盒在 37 ℃ 条件下放置 7 天,进行空白限、线性、准确度、批内精密度、特异性等检测,方法同上。

**2 结 果**

**2.1 外观** 外部包装盒整洁,文字符号标识清晰;所有试剂瓶密闭,无漏液;液体澄清。

**2.2 空白限** 各试剂盒的空白限最高为 3.18 IU/mL,均符合拟定的行业标准,即不大于 5.0 IU/mL,见表 1。

**2.3 线性** 各试剂盒在线性区间内,测定浓度与理论浓度的相关系数(*r*)应均高于 0.990 0,其中最高可达到 0.999 9,说明试剂盒的线性相关良好。见表 1。

**2.4 准确度** 3 个厂家的试剂盒中(1 个厂家未参与此项验证),100 IU/mL 参考品的测定均符合要求,500 IU/mL 参考品的测定中 B 厂家批号 258 有 1 次测定值为 416 IU/mL,相对偏差为 19.8%,高于拟定行业标准中要求的 15.0%,见附图 1

(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

**2.5 精密度** 在本次验证中,ELISA 试剂盒为手工操作,其批内精密度的变异系数最高为 9.2% 不高于行业标准中规定的 15.0%,批间精密度变异系数分别为 10.5%、11.0% 符合行业标准的規定。CLIA 试剂盒和 IF 试剂盒为全自动操作,批内精密度均低于 8.0%,其中最低仅为 1.1%,说明各试剂盒重复性良好。见附图 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

表 1 4 个厂家试剂盒的空白限、线性分析结果

试剂盒厂家	线性范围(IU/mL)	相关系数( <i>r</i> )	空白限(IU/mL)
A	0.4~1 000	0.999 9	1.2
B	2.9~15 000	0.999 9	1.0
C	0.0~1 000	0.998 7	3.1
D	0.5~1 000	0.999 9	0.5

**2.6 特异性** 3 个厂家的试剂盒中(1 个厂家未参与此项验证),1 个厂家以 IgM、IgG 为样本时,测定的 IgE 浓度高于 5 IU/mL,说明存在一定的交叉反应,其他试剂盒测定结果符合规定。见图 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

**2.7 质控品测定值** 4 个厂家的试剂盒对试剂盒自带的质控品进行测定,其高、低浓度质控品测定值均在靶值范围内,符合行业标准的規定。

**2.8 稳定性** 3 个厂家的试剂盒 37 ℃ 条件下放置 7 d,空白限、线性、准确度、批内精密度项目均符合要求,说明热稳定性良好。特异性同 1 个厂家以 IgM、IgG 为样本时,测定的 IgE 浓度高于 5 IU/mL。见表 2。

表 2 3 个厂家试剂盒热稳定性分析

试剂盒	相关系数( <i>r</i> )	空白限(IU/mL)	准确度分析(IU/mL)		特异性分析(IU/mL)			精密度(%)	
			浓度 1	浓度 2	IgA	IgM	IgG	低值	高值
A	0.999 8	0.9	97.26	503.8	0.28	0.49	0.24	1.0	1.6
			96.45	505.7					
			97.19	500.5					
			109.0	442.0					
B	0.999 9	1.0	108.0	481.0	1.0	1.0	1.0	7.7	6.1
			112.0	427.0					
			103.6	509.0					
			90.4	474.7					
C	0.998 4	3.2	95.2	525.5	4.6	6.3	6.2	8.5	6.8

**3 讨 论**

通常,临床医生根据试验结果连同病史和物理检查对患者进行诊断和决定治疗方案,但是对于变态反应疾病,由 IgE 介导的炎症反应的症状与其他原因导致的临床症状无明显区别,因此试验结果的准确、可靠、重复性好尤为重要。

良好的免疫测定试剂盒应满足一定的分析性能标准,包括线性范围内良好的相关性,重复检测时较小的变异系数,检测限等<sup>[7]</sup>,目前国际上对于 IgE 的定量检测要求重复检测的变异系数不超过 15%,标准曲线的校准品可以溯源至 IgE 国际参考物质(WHO75/502)等<sup>[8]</sup>。

本次标准验证中,由于总 IgE 目前没有国家参考品,因此

以总 IgE 国际参考品(WHO75/502)为样本进行准确度项目检测,选取 500 IU/mL 和 100 IU/mL 高低两个浓度,并且平行检测的 3 次结果均需符合技术指标要求,验证结果除 1 个厂家的 1 次结果略高于要求外,其他厂家结果均符合要求,说明各厂家试剂盒准确度良好,且可溯源至 IgE 国际参考物质(WHO75/502)。另外血清总 IgE 水平一般用国际单位(IU)或 ng 表示,1 IU=2.4 ng<sup>[9]</sup>,在本次拟定的行业标准中选取 IU/mL 为浓度单位。免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM 是 IgE 的结构类似物,IgG 是体液内主要的免疫球蛋白,约占血液中免疫球蛋白总量的 70%~75%,IgM 在免疫球蛋白中分子量最大,占血清免疫球蛋白总量的 10%,IgA 在血清中的含量(下转插 I)

(上接第 2568 页)

求开发专业校本教材,特别是专业实训教材,制订专业早期接触临床实施方案,印发毕业顶岗实习指导手册,将实践教学与医学检验职业岗位工作任务紧密结合起来;③开展专业教学资源库建设,将专业教学任务、实训教学项目、技能训练目标、职业岗位能力需求、专业技能达标要求等资源上网,拓展学生学习的时间和空间。(2)师资队伍建设:采用多种途径积极培养“双师”结构的师资队伍。①利用暑假采取专业培训、业务进修、进医院顶岗等形式,有计划地安排专业教师进医院参加生产实践,锻炼教师的职业岗位技能,学习新技术、新工艺,积累医院岗位工作经验;②聘请市中心医院检验科主任为“校外专业带头人”,指导专业的建设,引领专业发展;③聘请一批各医院检验科技术骨干担任兼职教师和实习带教教师,重点指导学生的校内实践教学和毕业顶岗实习;④在市卫生局的支持下,把黄冈市临床检验中心建设在我校,医学检验技术专业利用这个平台,积极开展教师“结对”活动,每位教师对接一个市、县、区,与全市医院检验科长期开展学术、技术层面的紧密合作,使专任教师的专业水平和实践能力紧跟技术的发展。(3)实践条件建设:在市临床检验中心的指导下,通过校院合作,引入行业的设备、技术和人力资源,共建校内实验实训基地;按医院检验科工作环境布局校内实验室,营造职业文化氛围<sup>[7]</sup>;在医院建设教室和学生宿舍,完善教学条件,把医院建设成为学生校外实习实训基地;充分发挥市临床检验中心的作用,从低年级学生开始,增加接触临床、专业见习的时间;利用真实检验项目组织开展现场教学、实验实训。(4)管理制度建设:不断完善实践教学管理制度,制定并发布实验实训教学工作规范、教学仪器设备管理办法、实习指导工作管理办法、实践教学基地建设管理办法、早期接触临床实施办法、专业认知实习课程标准、毕业实习课程标准、实践教学质量标准等教学文件,对实践教学的各个环节进行规范化的管理。

完善实践教学评价体系。(1)完善技能考核方式:①改革

课程考核方式,提高实践技能成绩的比重,把过程考核与终结考核、理论考核与实践考核相结合,引入职业态度的考核,引导学生既要重视专业知识的学习,又要强化专业技能和职业素养的培养;②把平时的专业技能考核、实习前的综合技能达标和毕业前的职业岗位技能考核有机结合,形成一个考核体系,保障毕业生能迅速适应医学检验职业岗位的能力要求。(2)完善教学质量评价机制:构建由学校专职督导员,兼职督导员、学生、家长、医院带教教师等人员组成的教学质量监控和评价体系,对教学过程、实践技能的培养进行全方位的监督和评价。引入第三方评价,把毕业生的就业率、就业质量、用人单位满意度纳入评价体系,全面评估专业人才培养质量。

## 参考文献

- [1] 陶晓丽. 浅析高职医学检验技术专业实践教学中的问题与对策[J]. 考试周刊, 2013(47): 166-167.
- [2] 韩叙. 高职实践教学体系要素构建研究[J]. 天津职业院校联合学报, 2012, 14(1): 42-45.
- [3] 李定清. 构建高职实践教学体系的基本思路[J]. 中国职业技术教育, 2007, 264(8): 39-40.
- [4] 周剑涛, 丁海峰, 姚振国, 等. 对定向基层医疗机构医学检验高职毕业生人才规格的调查[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(8): 1014-1015.
- [5] 植瑞东, 梁琼芳, 赵思婷, 等. 基于工学结合的医学检验技术专业实践教学体系构建与实践[J]. 卫生职业教育, 2011, 29(17): 10-12.
- [6] 孟凡云, 朱崇先, 魏仲香, 等. 基于实践教学体系 创新高职医学检验技术专业人才培养模式[J]. 中国职业技术教育, 2012(26): 50-53.
- [7] 宋晓光. 高职医学检验技术专业实践教学与临床检验工作无缝衔接的探索和构建[J]. 中国校外教育, 2011(10): 132-132.

(收稿日期: 2014-04-08)

(上接第 2524 页)

仅次于 IgG, 占血清免疫球蛋白总量的 10~20%, 而正常血清中 IgE 含量极低, 因此如果 IgE 与其他免疫球蛋白存在较高交叉反应, 会严重影响检测结果的准确性。在本次验证结果中, 有 1 个厂家的特异性 IgM 和 IgG 检验结果不符合要求, 但厂家表示可以提高产品性能, 更好的平衡特异性和灵敏度, 从而达到标准的要求。

本次验证分别采取了酶联免疫法、(电)化学发光法、免疫荧光法, 验证数据中外观、空白限、准确度、线性、精密度、质控品的测定值、稳定性等指标均可达到标准要求, 可操作性强, 指标设置科学合理, 能够满足临床使用的要求。

## 参考文献

- [1] Pearce N, Douwes J. The global epidemiology of asthma in children[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2006, 10(2): 125-132.
- [2] Thomas A E, Platte-Mills. The role of immunoglobulin E in allergy and asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164: S1-S5.
- [2] Platts-Mills TA. The role of immunoglobulin E in allergy and asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164(8 Pt 2): 1-5.
- [3] 魏庆宇, 黄建林. 过敏反应门诊手册[M]. 北京: 人民军医出版社, 2009.

2009.

- [4] Yunginger JW, Ahlstedt S, Eggleston PA, et al. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases[J]. J Allergy Clin Immunol, 2000, 105(6 Pt 1): 1077-1084.
- [5] 陈琳, 贾战生, 林永信, 等. 血清 IgE 水平检测及变应原皮试诊断 I 型变态反应病的意义[J]. 第四军医大学学报, 2001, 22(4): 344-346.
- [6] 李润祥, 朱慧兰. 特异性变应原体外检测的研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2007, 23(10): 890-892.
- [7] Williams PB, Barnes JH, Szeinbach SL, et al. Analytic precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: Establishing a standard[J]. J Allergy Clin Immunol, 2000, 105 (6, Part 1): 1221-1230.
- [8] Costongs GM, Janson PC, Hermans WJ, et al. Evaluation of performance characteristics of automated measurement systems for allergy testing[J]. Eur J Clin Chem Clin Biochem, 1995, 33(5): 295-305.
- [9] 杨小金. 哮喘患儿血清总 IgE 的检测及意义[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(4): 487-488.

(收稿日期: 2014-04-11)