

· 论 著 ·

胶体金法检测全血铁蛋白的性能评价及其在儿童缺铁性贫血中的临床应用

宋 涛¹, 谭 诗¹, 李秋红¹, 赵 妍², 李小强³, 李春莉^{1△}

(1. 重庆市妇幼保健院检验科 400013; 2. 重庆市妇幼保健院儿童保健科 400013; 3. 重庆医科大学附属儿童医院临床检验科 400013)

摘要:目的 评价国产胶体金法检测全血铁蛋白的分析性能,探讨其在儿童缺铁性贫血中的临床应用价值。方法 通过与免疫化学发光方法比较,根据 EP 文件从精密性、线性范围及抗干扰能力、可比性等方面评价胶体金法测定全血铁蛋白的分析性能;随机抽取重庆医科大学附属儿童医院 50 例缺铁性贫血患儿及重庆市妇幼保健院健康体检儿童 50 例,分别测定两组全血铁蛋白,分析其诊断效率。结果 胶体金法测定全血铁蛋白批间精密性分别为 7.2% 和 9.6%,线性为 0~100 ng/mL,溶血、黄疸、脂血无干扰,与雅培 i2000SR 血清铁蛋白检测结果比对差异无统计学意义($P>0.05$);与对照组相比,缺铁性贫血组全血铁蛋白明显降低。以 20 ng/mL 作为诊断临界点,其灵敏度为 94%,特异度为 100%,诊断效率为 97%。结论 胶体金法分析性能良好,作为即时检测项目能满足临床,具有较高诊断效率,对儿童是否缺铁可作提示性诊断。

关键词:胶体金; 全血; 铁蛋白; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.12.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)12-1639-04

Evaluation of performance of colloidal gold method on detecting blood ferritin and the value of blood ferritin in iron deficiency anemia in children

SONG Tao¹, TAN Shi¹, LI QiuHong¹, ZHAO Yan², LI Xiaoqiang³, LI Chunli^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Chongqing Health Center for Women and Children, Chongqing 400013, China;

2. Children Health Care Department, Chongqing Health Center for Women and Children, Chongqing 400013, China;

3. Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400013, China)

Abstract: Objective To analyze the performance of the colloidal gold method on detecting blood ferritin and the value of blood ferritin in iron deficiency anemia children. **Methods** By comparing with the chemiluminescence immunoassay method, the sensitivity, the liner, comparison and the distraction-analysis of blood ferritin were estimated following the EP file. A total of 50 children from Children's Hospital of Chongqing Medical University diagnosed with iron deficiency anemia were enrolled randomly into this observational study. Other 50 abnormal children from Chongqing Health Center of Women and Children were selected into the control group. The blood ferritin was detected in the two groups. Efficiency of diagnose was analyzed. **Results** Between-run assays were 7.2% and 9.6%, the linear range was 0-100 ng/mL. Hemoglobin, serum bilirubin, triglyceride had no interference in blood ferritin detection. Compared with the serum ferritin of Architect i2000SR, there was no significant difference($P>0.05$). With the control group, the blood ferritin was significantly decreased. If 20 ng/mL was used as the cut-off value, the sensitivity was 94%, the specificity was 100%, the efficiency of diagnose was 97%. **Conclusion** As a POCT detection project, analysis capability of the blood ferritin assayed by colloidal gold method could meet the requirements of clinical test. With good efficiency of diagnose, the method could prompt iron deficiency in children.

Key words: colloidal gold method; whole blood; ferritin; performance evaluation

缺铁性贫血(IDA)是临床常见疾病之一,也是贫血中最常见的类型,以婴幼儿和育龄期女性发病率较高。如果儿童 IDA 长期得不到改善,会造成发育迟缓、免疫力下降,甚至引发其他并发症^[1]。目前常用于诊断 IDA 的外周血常规参数不利于早期诊断,且灵敏度不高,不能准确及时地反映体内铁代谢状况。铁蛋白作为机体内一种储存铁的可溶性组织蛋白,其浓度变化可作为判断是否存在缺铁或铁负荷过量的指标,血清铁蛋白是检测体内铁缺乏的最灵敏指标^[2]。目前检测铁蛋白的方法主要是化学发光法,该法只能检测血清标本,然而对于发病率较高的婴幼儿进行静脉血抽取较困难,近年来,市场上出现通过胶体金法检测全血铁蛋白的试剂盒,方便、快速,仅需 20 min,尤其适用于婴幼儿。本研究对该方法的精密性、准确度、

线性范围及抗干扰能力(黄疸、脂血、溶血等)等性能进行评价,并与化学发光法检测临床患者的血清铁蛋白结果进行比对,了解该方法是否能满足临床检测需求,特别是针对婴幼儿铁蛋白筛查,探索其在本地区儿童 IDA 筛查中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年重庆医科大学附属儿童医院就诊的 IDA 患儿 50 例纳入 IDA 组,年龄 2~5 岁,平均年龄(3.2±0.7)岁。2015 年 1~8 月重庆市妇幼保健院进行常规体检儿童 50 例纳入健康对照组,年龄 2~4 岁,平均年龄(2.8±0.5)岁,排除早产、多胎、难产、妊娠合并症,排除先天性疾病和遗传性疾病。

1.2 仪器与试剂 免疫层析结果判读记录仪,铁蛋白试剂卡

由天津中新科炬生物制药有限公司提供,雅培 i2000SR 化学发光分析仪、铁蛋白试剂盒购自美国雅培公司。

1.3 标本采集 采集末梢血和静脉全血,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝及促凝待用。

1.4 方法

1.4.1 批内精密度 选取高浓度(90 ng/mL)和低浓度(20 ng/mL)的铁蛋白全血标本各 1 份,参照 EP 文件^[3],每份标本连续检测 20 次,分别计算变异系数(CV),得到不同浓度下的批内精密度。

1.4.2 批间精密度 取浓度分别为 85、15 ng/mL 的质控品各 1 份,均分装 5 支置 -20 ℃ 保存,每天各取出 1 支进行检测,每天检测 4 次,每次测定的时间相隔小于 2 h,连续 5 d,共获得两组、40 个数据,进行离群值检验。分别对检测高值所得的 20 个数据及检测低值所得的 20 个数据进行 CV 的计算,得到高值和低值的批间精密度。

1.4.3 线性范围 取 1 份 EDTA-K₂ 抗凝全血高值标本参照 EP 文件^[4],按 10 : 0.8 : 2、6 : 4、4 : 6、2 : 8、0 : 10 的比例,配制稀释度为 100%、80%、60%、40%、20%、0% 的系列浓度,使其最终浓度从低到高共 6 个浓度,分别用胶体金法重复 2 次检测铁蛋白水平,取平均值作为测定值,将测定值与理论值做直线回归。

1.4.4 参考范围 根据 WS/T 402-2012^[5],筛选出 20 个参考个体,采集末梢血标本,EDTA-K₂ 抗凝并检测,测定值剔除离群值后若不满 20 需补足,将这 20 个测定值与需验证的参考区间比较。

1.4.5 可比性试验 每天取 5 份血清样品,进行 1~5 号编号。先在雅培 i2000 化学发光分析仪上进行检测,再使用胶体金法检测同一患者全血铁蛋白浓度,各检测 2 次。第 1 次按 1~5 号的顺序,第 2 次按 5~1 号的顺序检测,连续测定 5 d。将对照系统和试验系统针对临床标本的检测结果进行相关系数计算,验证两个系统测试结果是否呈正相关关系。

1.4.6 干扰试验 (1)溶血干扰:取临床标本 EDTA-K₂ 抗凝全血 1 份,参照 EP 文件^[6],先用胶体金法测定 2 次全血铁蛋白,然后将此标本分为 3 份,用挤压法制造轻、中、重度溶血,离心后测定血浆血红蛋白(Hb),再用两种方法分别重复 2 次测定轻、中、重度溶血状态下的铁蛋白。(2)乳糜干扰:取高值全血铁蛋白(98 ng/mL)标本 1 份,低值全血铁蛋白乳糜标本 1 份,按比例 1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4 和 1 : 5 稀释,分别重复测定三酰甘油及全血铁蛋白。(3)黄疸干扰:取高值全血铁蛋白(98 ng/mL)标本 1 份,分别用生理盐水和高胆红素低铁蛋白全血标本 1 份,按比例 1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4 和 1 : 5 稀释后测定胆红素和铁蛋白。

1.4.7 储存温度和时间的影响 取当日全血标本,3 份标本混合,测定新鲜混合全血的铁蛋白浓度为 48 ng/mL,放置 4 ℃ 储藏 3~4 d,两种方法的结果与新鲜混合全血进行对比,重复测定 2 次。

1.5 临床应用价值 取重庆医科大学附属儿童医院 50 例已确诊为 IDA 患儿的全血标本,50 例已排除 IDA 儿童全血标本,分别测定全血铁蛋白,分析其在儿童 IDA 中的临床应用价值。

1.6 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,两组间均数比较采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异

有统计学意义。

2 结果

2.1 性能评价

2.1.1 批内精密度 高值和低值标本连续 20 次测定结果计算 CV 分别为 3.5% 和 5.9%。

2.1.2 批间精密度 高值和低值质控品计算 CV 分别为 7.2% 和 9.6%。

2.1.3 线性范围 胶体金法测定全血铁蛋白在浓度大于 100 ng/mL 时不呈线性关系,选择全血铁蛋白浓度稀释在 0~100 ng/mL 的 5 个浓度范围测定线性良好,直线回归方程: $Y = 0.975X + 0.103$, $r^2 = 0.997$,见图 1,测定值与理论值偏差小于 10%。

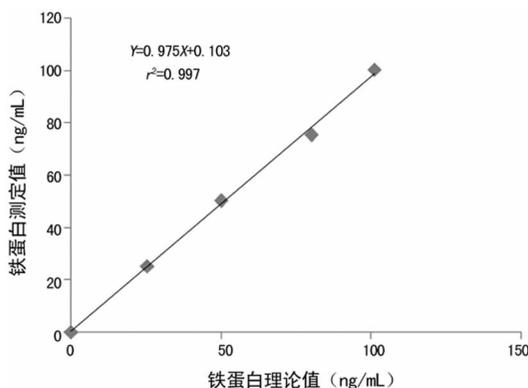


图 1 胶体金法测定铁蛋白线性范围

2.1.4 参考范围验证 按照 WS/T 402-2012 国家行业标准,测定 20 例表现健康的婴幼儿末梢全血标本的铁蛋白水平,其测定值均大于 20 ng/mL,表明可采纳试剂盒说明书提供的参考范围。

2.1.5 可比性试验 按照每天检测的顺序,连续 5 d 共检测 40 份血清样品和全血样品,每份血清样品使用化学发光分析仪检测 2 次,全血样品使用天津中新科炬铁蛋白检测试剂盒检测 2 次,各取其平均值,经配对 *t* 检验,两种仪器检测结果的差异无统计学意义($t = 0.692$, $P > 0.05$)。经回归分析,回归方程为 $Y = 1.107X - 9.749$, $r^2 = 0.934$,显示两种方法测定结果具有较高的可比性,见图 2。

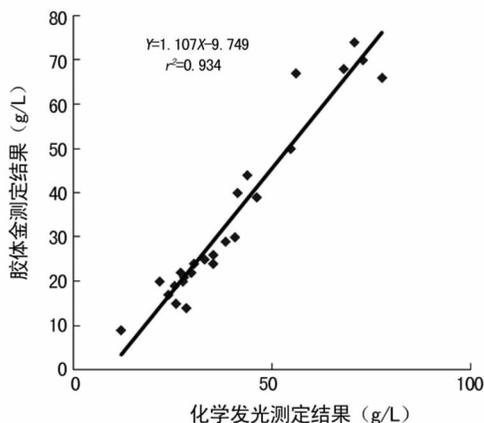
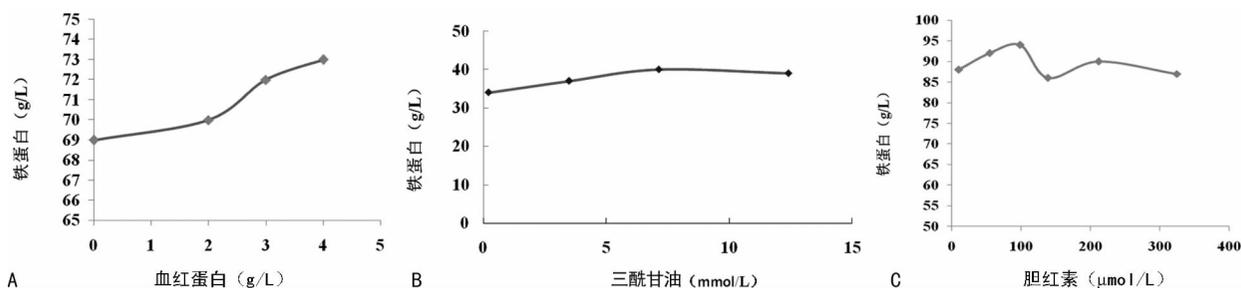


图 2 胶体金法与化学发光法铁蛋白测定结果对比

2.1.6 干扰试验 (1)溶血干扰:溶血有使全血铁蛋白测定结果偏高的趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 3A。(2)乳糜干扰,加入三酰甘油 4 种浓度时胶体金渗滤法铁蛋白

测定值差异无统计学意义($P>0.05$),见图 3B。(3)黄疸干扰,当标本中胆红素浓度为 10.2~324.6 $\mu\text{mol/L}$ 时,铁蛋白值在 86~94 范围内波动,差异无统计学意义($P>0.05$),见图 3C。



注: A、B、C 分别为溶血、乳糜、胆红素对胶体金法测定全血铁蛋白的影响。

图 3 溶血、乳糜、胆红素对胶体金法测定全血铁蛋白的影响

2.2.1 2 组儿童体内全血铁蛋白水平变化 IDA 组全血铁蛋白、血清铁水平明显低于健康对照组,而总铁结合力明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组全血铁蛋白水平变化分析($\bar{x}\pm s$)

组别	n	铁蛋白 (ng/mL)	血清铁 ($\mu\text{mol/L}$)	总铁结合力 ($\mu\text{mol/L}$)
健康对照组	50	62.91 \pm 21.42	16.32 \pm 4.36	50.13 \pm 10.11
IDA 组	50	9.22 \pm 7.21	4.15 \pm 1.52	77.97 \pm 12.22
P		<0.05	<0.05	<0.05

2.2.2 胶体金法测定全血铁蛋白结果与疾病的符合率 以试剂盒说明书 20 ng/mL 作为诊断临界点,评价其临床应用价值,其灵敏度为 94%,特异度为 100%,诊断效率为 97%,见表 2。

表 2 胶体金法测定全血铁蛋白结果与疾病的符合情况(n)

胶体金法	疾病状态		合计
	有	无	
阳性	47	0	47
阴性	3	50	53
合计	50	50	100

3 讨论

铁是人体所必需的一种微量矿物元素,在氧的运输,血红蛋白形成,电子传递和多种酶促反应中扮演着重要角色^[7]。血清铁蛋白是体内铁储存的主要形式,参与调节人体铁的代谢平衡,是目前公认的评估铁储存状态的重要标志物^[8]。近年来越来越多的研究资料表明,体内铁代谢异常参与了多种生理、病理过程,铁过量与肿瘤、糖尿病、冠心病等疾病密切相关^[9]。铁缺乏则是导致贫血发生的重要原因之一^{—[7]}。IDA 是指由于血液中缺乏足够的铁,导致红细胞或者血红蛋白水平下降的一类多发于孕期女性、婴幼儿及青少年的常见疾病,研究显示孕妇缺铁会导致婴儿早产、体质量过低,同时,铁缺乏会损伤婴幼儿的中枢神经系统髓鞘的形成,影响婴幼儿学习能力,对其智力造成不可逆的损伤,因而快速准确地检测孕妇和婴幼儿的体内铁水平,及时发现铁缺乏,并补充适量的铁,对于婴幼儿的健康和发育具有长远意义。目前诊断 IDA 最有效的方法是骨髓铁染色检测细胞内外铁水平^[10],但骨髓铁染色只适用于大型医院的临床工作,由于其标本的采集及方法学的限制,不利于进

2.1.7 稳定性 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置 3 d 测定结果与新鲜全血的铁蛋白误差小于 5%。

2.2 临床应用

行快速筛查以及床旁检测。研究显示血清铁蛋白能有效地反映体内铁的存储量,对 IDA 有较好的诊断价值,其标本的采集及在临床的推广要比骨髓铁染色更为方便^[11-12]。

目前大部分医疗机构主要是通过免疫化学发光法检测血清铁蛋白,虽然此种方法检测的特异度和灵敏度较高,其缺点在于一方面检测标本需要抽取静脉血,对婴幼儿检测时标本采集比较困难;另一方面,需要大型化学发光分析仪且耗时,不适合床旁检测和快速筛查。

国产胶体金定量检测全血铁蛋白采用双抗夹心免疫层析法原理,当测试卡上的样品垫吸收到适量标本时,标本中的铁蛋白会与标本垫中的胶体金标记抗体结合,形成“铁蛋白-金标抗体”复合物。检测线色带的颜色强度与铁蛋白水平呈正相关。

本研究显示胶体金法检测全血铁蛋白浓度在 0~100 ng/mL 内线性良好, $Y=0.975X+0.103, r^2=0.997$,该法的标本稳定性较好,2~8 $^{\circ}\text{C}$ 可保存 3 d,黄疸、脂血、溶血对结果无干扰,将胶体金法和化学发光两种方法测定结果进行比较,差异无统计学意义($t=0.692, P>0.05$),与血清铁蛋白比较,全血铁蛋白测定结果偏低,差异无统计学意义($P>0.05$)。作为即时检测,胶体金法不失为一种简便、快速的全血铁蛋白检测系统,其分析性能可满足临床即时筛查的要求。

全血铁蛋白在 IDA 患儿中明显降低,以 20 ng/mL 作为临界点,胶体金法测定全血铁蛋白具有较高诊断效率,在 IDA 诊断中有重要的意义,可作为一种快速筛查,对是否缺铁作提示性诊断。如出现阳性,需结合临床和其他检查综合考虑。

综上所述,胶体金渗滤法检测全血铁蛋白为一种简便、快速的全血铁蛋白检测系统,其分析性能可满足临床即时检测的要求。铁蛋白能有效地反映体内铁储存量,对 IDA 有较好的诊断价值,为婴幼儿的 IDA 快速筛查提供一种新型高效的检测方法。

参考文献

[1] 沈晓明,王卫平. 儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010:348-532.
 [2] 彦华,姚广燕,陈学良,等. 缺铁性贫血的诊断思路[J]. 中国综合临床,2005,21(1):91-92.
 [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of (下转第 1644 页)

其耐药率基本都在 50% 以上,这与国外许多相关报道一致^[11-13]。而在年龄段的统计分析中 20~<30 岁的女性围生期患者在感染率和种类数量上都体现出集中高发态势,不难看出此年龄段的患者较其他年龄段有着更强的易感性,此年龄段的女性更应进行提早预防。本研究还显示,支原体感染者对于早期生产的抗菌药物普遍耐药率较高,如奎诺酮类药物和第一代大环内酯类药物。而对于后面面世的二代大环内酯类药物例如交沙霉素,以及半合成四环素类药物,如盐酸米诺环素等的耐药率还比较低。这提醒临床医师在开具处方时应选择耐药率较低的药物,同时合理使用新药防止这些药物过早出现广泛耐药。

综上所述,支原体在本院收治的围生期女性中感染率还很高,且对于传统的氟喹诺酮耐药比较普遍,年龄在 20~<30 岁的女性是支原体感染的重点人群,临床可以根据其年龄和生育周期选择适当的提前干预或者预防性的治疗,用药则首选二代大环内酯类和四环素类的抗菌药物,对于支原体的不同类型感染有较好预后。

参考文献

[1] Abusarah EA, Awwad ZM, Charvalos E, et al. Molecular detection of potential sexually transmitted pathogens in semen and urine specimens of infertile and fertile males [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2013, 77(4): 283-286.

[2] Zhou Y, Xu XL, Wang CP, et al. Detection and the antibiotic susceptibility analysis of mycoplasma and chlamydia in urogenital tract infections of 327 cases patients with tubal infertility [J]. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*, 2011, 25(3): 201-204.

[3] Zhu CT, Liu JM, Ling Y, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in Chinese women with genital infectious diseases [J]. *Indian J Dermat Venere Lepr*, 2012, 78(3): 406-407.

[4] 毛源, 王晶. 江苏地区男性与女性 NG、CT 及 UU 感染情况比较 [J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(19): 2350-2351.

[5] 窦晓青, 叶骞, 许江燕, 等. 妇科门诊生殖道感染调查分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2014, 24(5): 1252-1254.

[6] Mihai M, Valentin N, Bogdan D, et al. Antibiotic susceptibility profiles of *Mycoplasma hominis* and *ureaplasma urealyticum* isolated during a population-based study concerning women infertility in Northeast Romania [J]. *Braz J Microbiol*, 2011, 42(1): 256-260.

[7] Patel MA, Nyirjesy P. Role of mycoplasma and ureaplasma species in female lower genital tract infections [J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2010, 12(6): 417-422.

[8] Kasprzykowska U, Elias J, Elias M, et al. Colonization of the lower urogenital tract with *Ureaplasma parvum* can cause asymptomatic infection of the upper reproductive system in women; a preliminary study [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2014, 289(5): 1129-1134.

[9] Dhawan B, Malhotra N, Sreenivas V, et al. *Ureaplasma serovars* & their antimicrobial susceptibility in patients of infertility & genital tract infections [J]. *Indian J Med Res*, 2012, 136(6): 991-996.

[10] 张静. 生殖道衣原体、支原体感染与先兆流产的关系研究 [J]. *深圳中西医结合杂志*, 2015, 25(18): 18-19.

[11] Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S, et al. Detection of mycoplasma genitalium, mycoplasma hominis, ureaplasma urealyticum, and ureaplasma parvum DNAs in urine from asymptomatic healthy young Japanese men [J]. *J Infect Chemother*, 2006, 12(5): 269-271.

[12] Verteramo R, Patella A, Calzolari E, et al. An epidemiological survey of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in gynaecological outpatients, Rome, Italy [J]. *Epidemiol Infect*, 2013, 141(12): 2650-2657.

[13] Nakashima K, Shigehara K, Kawaguchi S, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in the oropharynx and urine among sexually active men; a comparative study of infection by papillomavirus and other organisms, including *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma spp*, and *Ureaplasma spp* [J]. *BMC Infect Dis*, 2014, 14(1): 43.

(收稿日期: 2016-01-18 修回日期: 2016-03-18)

(上接第 1641 页)

Quantitative measurement methods; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.

[4] National committee for clinical laboratory. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach; approved guideline [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.

[5] 中华人民共和国卫生部. WS/T402-2012 《中华人民共和国卫生行业标准: 临床实验室检验项目参考区间的制定》[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP7-A2 Interference testing in clinical chemistry; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.

[7] Abbaspour N, Hurrell R, and Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health [J]. *J Res Med Sci*,

2014, 19(2): 164-174.

[8] Abril-Ulloa V, Flores-Mateo G, Sola-Alberich R, et al. Ferritin levels and risk of metabolic syndrome; meta-analysis of observational studies [J]. *BMC Public Health*, 2014, 14(1): 483.

[9] Fleming RE, Ponka P. Iron overload in human disease [J]. *New Engl J Med*, 2012, 366(5): 348-359.

[10] 吕龙. 血清铁、铁蛋白和铁染色对缺铁性贫血诊断价值的研究 [J]. *中国医药科学*, 2012, 2(10): 131-133.

[11] 董毅, 刘蕾, 朱太岗, 等. 血清铁蛋白检测在贫血性疾病中的临床价值 [J]. *中华全科医学*, 2010, 8(4): 437-438.

[12] 欧阳维富. 血清铁蛋白测定对缺铁性贫血的诊断价值讨论 [J]. *实用医学杂志*, 2008, 24(23): 4127-4128.

(收稿日期: 2016-01-12 修回日期: 2016-03-19)