

3 讨 论

西门子 ADVIA 2120i 全自动血细胞分析仪具有检测快速、参数多、准确性高、自动化等特点,适合临床常规应用。LUC 是 ADVIA2120 全自动血细胞分析仪推出的一种全新参数,指在过氧化物酶染色中未被染色的细胞包括大淋巴细胞、浆细胞、各种原始和幼稚细胞,LUC% 是 LUC 数与 WBC 总数之比,正常参考范围为 0~4%,LUC 增高超出正常参考范围主要是由幼稚细胞引起的^[1-2]。

目前 90% 以上化疗药物对患者骨髓有抑制作用^[3],患者因各种原因进行化疗后大多数出现 WBC 减少(表 1),对于卵巢癌化疗方案应用最为广泛的为紫杉类联合铂类,因化疗对各种组织、器官的正常细胞群和肿瘤细胞群有不同程度的损伤,当化疗剂量到达一定数量值虽然可使肿瘤细胞全部死亡,但该剂量往往已超过正常组织的耐受量,最常见的不良反应为骨髓抑制,其次为胃肠道反应、脱发、局部刺激、过敏反应等^[4]。放、化疗或化疗的恶性肿瘤患者应经常进行外周血常规检查,以了解骨髓抑制情况,若 $WBC < 2.0 \times 10^9 L^{-1}$ 、血小板小于 $2.0 \times 10^{12} L^{-1}$ 应暂停治疗并适当隔离,避免感染^[5]。

从表 1 可见,恶性肿瘤患者在化疗前中性粒细胞显著高于化疗后,而且化疗后大未染色细胞显著高于化疗前,差异有统计学意义($t = 32.16, P < 0.05$),LUC/LEU 为 $(15.0 \pm 3.26)\%$,尽管化疗后 WBC 数目减少,大未染色细胞仍显著增高,说明中性粒细胞过氧化物酶活性降低。从表 2 可见,恶性肿瘤患者化疗后中性粒细胞碱性磷酸酶和过氧化物酶积分较化疗前降低,差异均有统计学意义($t = 75.3, 64.2, P < 0.05$)。

• 经验交流 •

表明化疗后中性粒细胞过氧化物酶活性降低,因此,在应用西门子 ADVIA 2120 全自动血细胞分析仪进行血常规分析时卵巢癌患者化疗后,由于过氧化物酶活性显著降低,故大未染色细胞显著增高,大未染色细胞与过氧化物酶活性显著降低是一致的。

血常规测定中大未染色细胞不仅出现在恶性血液病患者,卵巢癌患者化疗后中性粒细胞过氧化物酶和碱性磷酸酶活性降低,外周血中大未染色细胞升高,因此,恶性肿瘤患者化疗后除进行中性粒细胞和血小板数量检查外还应进行大未染色细胞、中性粒细胞过氧化物酶和碱性磷酸酶活性的检查,以达到决定是否继续化疗的监测效果。

参考文献

- [1] 詹琦,俞萍丽.全自动血细胞分析仪计数 LUC 与手工镜检计数幼稚细胞的对照分析[J].福建医药杂志,2012,34(6):52-54.
- [2] 王昌富,邓明华,彭长华,等.血涂片复审原始/幼稚细胞的临床诊断性试验研究[J].实用检验医师杂志,2011,3(1):23-26.
- [3] 郭一民,贺咏宁,龙生平.骨髓移植防治恶性肿瘤化疗后骨髓抑制的临床观察[J].时珍国医国药,2013,24(12):2944-2945.
- [4] 于荣,侯建青.紫杉醇联合铂类化疗对晚期卵巢上皮细胞癌患者 CD4+CD25+FOXP3+细胞的影响及意义[J].滨州医学院学报,2012,35(4):248-251.
- [5] 张明珠,何广元,朱红.恶性肿瘤患者化疗前后白细胞参数变化的探讨[J].现代肿瘤医学,2005,13(3):334-335.

(收稿日期:2015-07-06)

氯化苯丙胺盐法全自动化检测微量总蛋白存在重大的方法学缺陷

庄小青¹,罗士来²,杨露¹,夏前凤²,薛梦²

(1.泗阳仁慈医院检验科,江苏宿迁 223700;2.泗阳县中医院检验科,江苏宿迁 223700)

摘要:目的 探讨氯化苯丙胺盐法全自动化检测脑脊液或尿液中微量总蛋白发生严重差错的原因。方法 将定值总蛋白采用连续递减稀释法获得 35 例标本(总蛋白质量浓度 0~30 g/L),然后在贝克曼 DXC800 生化分析仪上采用氯化苯丙胺盐法检测。结果 (1)当总蛋白质量浓度为 0~3 g/L 时检测值呈线性增加,与理论值一致。(2)当总蛋白质量浓度为 3~9 g/L 时检测值递减,在 0.5~2.5 g/L 之间。当总蛋白质量浓度大于 9 g/L 时检测值趋于 0.5 g/L 左右。结论 该法不能满足全自动化检测的单区间要求,即检测值存在二元性,故不宜单独采用全自动生化分析仪检测。

关键词:生物化学/仪器和设备; 自动化; 血蛋白质类; 氯化苯丙胺盐

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.063

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)02-0275-03

氯化苯丙胺盐与脑脊液或尿液中微量总蛋白结合产生稳定的浊度,通过浊度变化确定微量蛋白质的质量浓度。据文献报道,该方法稳定性好、灵敏度高、线性范围宽、抗干扰能力强^[1]。2014 年 7 月至 2015 年 5 月作者使用该法试剂盒在全自动生化分析仪上检测微量总蛋白共计 120 例,其中结果出现严重偏差 5 例,与临床诊断不符。经实验研究表明,该法存在重大方法学缺陷,即对高质量浓度标本无反应饱和点,无法进行纠正与监测,导致检测值存在二元性,易误诊病理性高值,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 美国贝克曼定值血清(总蛋白质量浓度 30 g/L)。

1.2 仪器与试剂 美国贝克曼全自动生化分析仪 Dxc 800 及其配套试剂、校准品;氯化苯丙胺盐法脑脊液及尿蛋白检测试

剂盒(检测线性 0~3 g/L),配套标准品及质控品(国产)。

1.3 方法 确认按照试剂盒说明书设置检测参数并定标,连续检测质控品 20 个工作日,确认试剂稳定、测量状态在控;确认检测人员已熟练掌握仪器与试剂盒使用方法。采用生理盐水将贝克曼定值血清按约 1 g/L 质量浓度递减连续稀释获得 30 份标本,再将第 30 号标本(总蛋白质量浓度为 0.9 g/L)按倍比稀释法获取 5 份标本,见表 1。将 35 份标本编号后按 1~35 号和 35~1 号次序测量 2 次,取均值。

1.4 数据处理 应用 Excel2003 软件进行数据分析、计算、绘图与制表等。

2 结 果

总蛋白质量浓度大于 3 g/L 时检测值不是趋于饱和而是下降,造成检测值二元性,不能满足全自动化检测的单区间要

求。35 份标本检测结果见表 2。

表 1 定值血清稀释后质量浓度 (g/L)

标本号	血清量(μL)	生理盐水量(μL)	总蛋白理论质量浓度(g/L)
1	100	0	30.000
2	97	3	29.100
3	93	7	27.900
.....
29	7	93	2.100
30	6	194	0.900
31	100(30 号标本)	100	0.450
32	100(31 号标本)	100	0.225
33	100(32 号标本)	100	0.113
34	100(33 号标本)	100	0.057
35	100(34 号标本)	100	0.029

表 2 35 份标本检测结果

标本号	理论质量浓度(g/L)	检测质量浓度(g/L)	偏差(%)
1	30.000	0.510	-98.3
2	29.100	0.510	-98.2
3	27.900	0.520	-98.1
.....
22	9.000	0.660	-92.7
23	8.100	8.100	-90.1
24	6.900	1.200	-82.6
25	6.000	1.400	-76.7
26	5.100	2.000	-60.8
27	3.900	2.491	-36.1
28	3.000	2.542	-15.3
29	2.100	2.121	1.0
30	0.900	0.891	-1.0
31	0.450	0.440	-2.2
32	0.225	0.221	-1.8
33	0.113	0.115	1.8
34	0.057	0.056	-1.8
35	0.029	0.028	3.4

3 讨 论

在微量总蛋白检测方法中磺基水杨酸比色法需要自配试剂、操作繁琐、易产生凝块造成误差且标准液不统一、精密度较低。染料结合法和邻苯三酚红钼络合法对清蛋白的灵敏度高于球蛋白,且染料易污染比色杯。干化学法测定线性宽、速度快,但成本很高。据文献报道氯化苯丙胺盐法是较理想的方法^[2-8]。

作者在使用该法时发现会出现严重误差并据此进行深入探讨。对 35 份标本的检测方法与理论值绘制成散点图,见图 1。当总蛋白质量浓度为 0.029~3 g/L 时检测结果与理论值相关性好,其散点图呈直线型(I 区);3~6.9 g/L 时图形呈快速下降趋势(II 区);8.1~30 g/L 时其散点图呈低吸光度平缓趋势(III 区)。很直观地表明采用该法检测高质量浓度标本时

其检测值不成饱和状态,反而快速、无规律下降(是形成大小不一的凝块所致),造成所有结果均存在二元性。即使采用定性方法确定送检标本为病理性,需进行稀释测定,但也绝对不知如何稀释才能确保稀释标本待测质量浓度在该法检测线性范围内,否则检测结果仍为二元性,说明该法存在重大方法学缺陷。

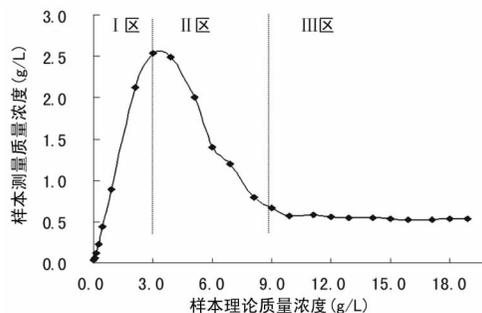


图 1 35 份标本检测值与理论值配对散点图

通过对 35 份标本检测过程进行连续监测,根据图 1 的 3 个不同区域选择代表性标本绘制检测反应曲线图,见图 2。曲线 1、2、3 总蛋白质量浓度在该法检测范围内并逐渐增加,由图 2 可见,随着总蛋白质量浓度增加,测量吸光度亦逐渐增加,对每一个标本而言,在整个反应过程中吸光度是稳定逐渐增加的。曲线 4、5、6 总蛋白质量浓度大于该法检测范围并逐渐增加,但其最大吸光度、测量吸光度、反应速度及反应过程均无固定规律并与曲线 1、2、3 重叠交叉,说明该法方法学缺陷是无法在全自动生化分析仪上设置参数进行监测与纠正^[9-11]。

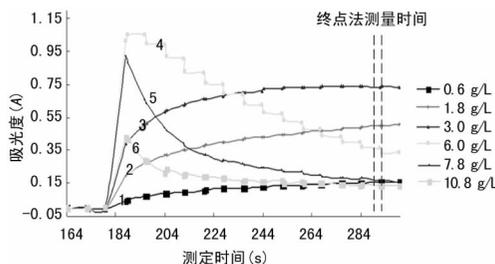


图 2 典型检测反应曲线图

综上所述,采用全自动生化分析仪应用氯化苯丙胺盐法检测微量总蛋白会因方法学存在缺陷造成所有测量结果均在其检测线性范围之内,需人工对检测值甄别避免高值误诊,故不宜单独采用全自动生化分析仪检测。

参考文献

- [1] 唐晓霞. 氯化苯丙胺盐比色法检测脑脊液蛋白质方法学评价[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(12): 1553-1554.
- [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 342.
- [3] 张文英, 赵毓祥, 沈广虎. 脑脊液蛋白检测方法学评价[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1334-1335.
- [4] 陈新宽. 伊红 Y 染料结合法测定脑脊液蛋白在全自动生化分析仪上的应用[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(3): 335-336.
- [5] 胡志斌. 两种脑脊液及尿蛋白定量方法的比较[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(10): 1251-1252.
- [6] 殷舟, 陈屹一, 蒋朱秀, 等. 脑脊液微量总蛋白检测体系最低检出限的非参数评估方案[J]. 医学研究杂志, 2013, 42(7): 70-73.
- [7] 胡盈莹, 胡望平, 周长郡, 等. 尿液与脑脊液总蛋白测定方法研究[J]. 医学研究杂志, 2007, 36(3): 56-57.

- [8] 黄小燕,李宇雄,戴小波. 苜蓿素氯胺比浊法测定脑脊液蛋白质的方法学评价[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(15): 902-903.
- [9] 徐国宾,蒋琳. 临床生物化学常规定量方法的分析性能评价[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(6): 718-720.
- [10] 罗梅,贺岩,张晓宇. 全自动生化分析仪参数设置与应用[J]. 国

际检验医学杂志, 2012, 33(2): 222-223.

- [11] 肖玉鹏,吴卫平. 自动生化分析仪定量测定脑脊液总蛋白[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(2): 116-117.

(收稿日期: 2015-07-09)

• 经验交流 •

Elecsys HBsAg COI 灰区标本再分析探讨

姚家奎,印晓静,钱小丽,成红霞[△]

(江苏省苏北人民医院医学检验科,江苏扬州 225001)

摘要:目的 探讨电化学发光免疫分析(ECLIA)法乙型肝炎病毒(HBV)表面抗原(HBsAg)cut off 指数(COI)灰区标本再次进行确证分析的临床价值。方法 被检血清标本均来自 2014 年 1 月至 2015 年 3 月该院就诊的门诊和住院患者,应用 Elecsys HBsAg 确证试验对 213 例 ECLIA 法检出 HBsAg COI 灰区标本进行再分析并对受检标本 HBV 血清标志物两对半(以下简称乙肝两对半)模式进行回顾性分析。结果 213 份标本中 ECLIA 法检测 HBsAg COI 结果为 0.80~0.99 31 例,经 Elecsys HBsAg 确证试验阳性 2 例[6.45%(2/31)];HBsAg COI 结果为 1.0~1.99 弱反应性标本 93 例,经 Elecsys HBsAg 确证试验阳性 92 例[98.92%(92/93)];HBsAg COI 结果为 2.0~6.99 89 例,经 Elecsys HBsAg 确证试验均为阳性,阳性率为 100.00%(89/89);213 例 ECLIA 法检出 HBsAg COI 灰区标本经 Elecsys HBsAg 确证试验阳性 183 例,检出 6 种乙肝两对半模式,其中 HBsAg、HBV e 抗体(HBeAb)、HBV 核心抗体(HBcAb)阳性模式 155 例,占大多数[72.77%(155/213)];经 Elecsys HBsAg 确证试验阴性 30 份标本中检出 7 种乙肝两对半模式,其中 HBeAb、HBcAb 阳性模式 16 例,检出率为 7.51%(16/213)。结论 ECLIA 法乙肝两对半定量检测 HBsAg 临界或较低水平的弱反应性标本、乙型肝炎感染模式不常见的标本时需经 Elecsys HBsAg 确证试验再分析以防止假阴性或假阳性结果的出现。

关键词:肝炎病毒,乙型; 肝炎表面抗原,乙型; 电化学; 免疫测定; 乙型肝炎病毒表面抗原定量试验; 乙型肝炎病毒表面抗原确证试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.064

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)02-0277-02

乙型肝炎病毒(HBV)血清标志物(以下简称乙肝两对半)定量检测是用来评估人体自身免疫系统对抗 HBV 能力的简单、可靠的方法,其能帮助医生监测和评估患者抗病毒治疗的应答情况,早期预测治疗是否有效^[1]。然而在具体操作过程中由于一些 HBV 低浓度携带者的低抗原量及检测方法学所限等原因造成了 HBV 表面抗原(HBsAg)的漏检和假阳性,不得不起临床和检验医生的关注。近年来随着检验技术的不断发展,根据临床需要及各自检测方法优势来选择经济、适用、结果可靠的检验方法,制定标准规范操作程序已成为必然。由于电化学发光免疫分析(ECLIA)法为定量检测、操作简单,亦可对乙肝两对半模式进行确证试验,且在乙型肝炎患者病情的动态观察和药物疗效考核方面具有重要意义,已在临床逐步推广应用^[2-3]。本研究探讨了 ECLIA 法在乙肝两对半定量试验中 HBsAg cut off 指数(COI)灰区标本的主要模式及再次进行确证分析的临床价值。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 所有被检血清标本均来自 2014 年 1 月至 2015 年 3 月本院就诊的门诊和住院患者。

1.2 仪器及信息系统 德国 Roche cobas 6000 全自动生化分析仪、Roche RSA 样品前处理系统、北京智方 LIS 系统及 cabas IT3000 solution 软件系统。

1.3 试剂 Roche cobas 6000 全自动生化分析仪(ECLIA 法)配套乙肝两对半定量试剂、定标液 1、定标液 2、HBsAg 确证试剂及 HBsAg II 质控品等均由德国罗氏诊断公司生产,所有试剂均在有效期内使用。

1.4 方法 采集被检者空腹静脉血 3 mL,经 Roche RSA 样品前处理系统签收、离心、去除试管盖后采用 Roche cobas 6000 全自动生化分析仪分别对相应标本进行检测分析并对 HBsAg 临界及弱反应性标本进行 Elecsys HBsAg 确证试验再分析。为确保受检血清标本与确认试剂、质控试剂反应过程条件一致,确证试验检测前将 Roche cobas 6000 封闭 3 个检测池,只保留 1 个检测池。

1.5 检测结果判定 乙肝两对半定量检测采用 ECLIA 法由 Elecsys 软件自动通过比较样本的反应产物产生的光电信号和定标液得出 cut off 值进行结果判定。HBsAg \geq 1.0 COI 为有反应性,<1.0 COI 为无反应性。Elecsys HBsAg 确证试验的样本和阳性 II 质控品同时经确认试剂、质控试剂预处理 30 min 后经 Roche Modular cobas 6000 全自动生化分析仪检测 COI,在审核检测的有效性条件下(在确证试剂检测中 Elecsys Preci Control HBsAg II 的 COI 必须小于质控试剂检测的 COI 50%),若质控试剂检测的标本 COI 为 100%,确证试剂检测的标本 COI 为 X%,则结果解释为 X>50%,且质控试剂检测的 COI \geq 0.9 确证试验结果为无反应性;X<50%且质控试剂检测的 COI \geq 0.9 确证试验结果为阳性。

2 结果

2.1 ECLIA 法与 Elecsys HBsAg 确证试验检测 HBsAg 结果比较 213 例 ECLIA 法检出 HBsAg COI 临界及弱反应性标本再次进行 Elecsys HBsAg 确证试验结果比较见表 1。

2.2 Elecsys HBsAg 确证试验阴、阳性标本乙肝两对半模式分析 213 例 ECLIA 法检出 HBsAg COI 灰区标本经 Elecsys

[△] 通讯作者, E-mail: 2460672142@qq.com.