

• 临床研究 •

某品牌国产化学发光仪检测降钙素原的性能评价

龙 琴¹, 肖亚雄¹, 唐灵通¹, 卢灵锋²

(1. 四川省宜宾市第一人民医院检验科 644000; 2. 四川省宜宾市宜宾县人民医院 644000)

摘要:目的 对某品牌国产化学发光仪检测降钙素原(PCT)的性能进行评价。方法 在新产业 MAGLUMI4000 化学发光仪上检测 PCT, 对其精密度、线性、携带污染率进行评价, 并与梅里埃(mini-VIDAS)酶联免疫荧光法检测 PCT 进行相关性分析。结果 化学发光法检测 PCT 的低、中浓度样本的 $CV_{\text{批内}}$ 分别为 1.56%、2.23%; $CV_{\text{批间}}$ 分别为 2.30%、3.05%。PCT 在 0.5~98.0 ng/mL 浓度范围内线性良好($Y=0.997\ 22X+0.173\ 77, r^2=0.998\ 12$)。携带污染率为 0.89%, 样本间交叉污染小。新产业 MAGLUMI4000 化学发光仪检测系统与梅里埃 mini VIDAS 荧光免疫分析仪检测系统测定 PCT 的结果呈明显相关($Y=1.004X+0.005\ 59, r^2=0.999\ 58$)。结论 新产业 MAGLUMI4000 化学发光仪检测系统测定 PCT 的性能良好, 可供临床使用。

关键词:降钙素原; 化学发光法; 酶联免疫荧光法; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)14-1998-02

降钙素原(PCT)是降钙素的激素原, 是一种由 116 个氨基酸组成的糖蛋白, 相对分子质量为 13×10^3 。健康人血清 PCT 浓度极低($<0.05\ \text{ng/mL}$), 当机体受到促炎反应刺激, 特别是细菌感染时, PCT 表达普遍增加, 并且从实体组织和各种类型的细胞中(如肝、肾、脂肪细胞和肌细胞等)不断释放入血^[1], 且炎症越重, 血浆 PCT 浓度越高^[2]。作为一种新型炎症标志物, PCT 常用于诊断和鉴别诊断细菌性和非细菌性感染及用于感染严重程度的判断^[3]。目前国内 PCT 检测多采用进口试剂及配套仪器, 但存在成本昂贵的问题, 因而限制了该项目在基层医院的开展。而国产的新产业 PCT 试剂及配套 MAGLUMI4000 化学发光仪检测具有成本低, 批量检测速度快等优点, 但其检测性能如何, 目前国内有关报道较少见, 本试验就该检测系统进行相关性评价, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 精密度试验采用新产业 PCT 检测试剂盒配套质控品, 其余样本来自宜宾市第一人民医院临床新鲜血清样本, 无明显溶血、脂血及黄疸。

1.2 仪器与试剂 PCT 化学发光法测定试剂盒及配套校准品、质控品为深圳新产业生物工程股份有限公司生产(批号: 068150610), 检测仪器为新产业 MAGLUMI4000 化学发光仪及其配套试剂: 底物液 1+2(批号: 302151120), 清洗液(批号: 303151021); PCT 荧光免疫分析法测定试剂盒及配套校准品、质控品为梅里埃生产(批号: 1004108560), 检测仪器为梅里埃 mini VIDAS 荧光免疫分析仪。

1.3 方法

1.3.1 精密度 参考美国国家临床实验室标准化研究所(CLSI)的 EP5-A2 文件指南^[4], 做精密度试验。采用 2 个浓度质控品进行检测, 每天 2 批, 每批检测 2 次, 每日每批至少间隔 2 h, 共进行 20 d, 2 个浓度样本分别获得 80 个测试结果。使用经离群值检验合格的数据进行批内、批间及总不精密度的计算。

1.3.2 线性范围 参考 CLSI 的 EP6-A 文件^[5], 将 PCT 的低、高值分别是 0.5、98.0 ng/mL 的 2 个样本, 按 0.5 : 0.4 : 0.1、0.3 : 0.2、0.2 : 0.3、0.1 : 0.4、0 : 0.5(单位: mL)配成 6 个系列浓度样本, 在 MAGLUMI4000 化学发光仪上每个样本重复测 3 次, 以样本预期值为 X 轴, 以实测均值为 Y 轴绘图。计算线性回归方程。

1.3.3 携带污染率 选择高值(H)和低值(L)样本各 1 份, 依

次测高值 3 次(H_1 、 H_2 、 H_3)、低值 3 次(L_1 、 L_2 、 L_3), 计算携带污染率。携带污染率($\%$)= $(L_1-L_3)/(H_3-L_3) \times 100$ 。

1.3.4 相关性分析 参考 EP9-A2 文件^[6], 每天选择 8 个新鲜患者样本, 在室内质控合格的情况下, 2 h 内分别在新产业 MAGLUMI4000 化学发光仪和梅里埃 mini VIDAS 荧光免疫分析仪上测定 PCT, 每个样本重复测定 2 次, 连续 5 d, 以梅里埃 mini VIDAS 荧光免疫分析仪 2 次测定结果的均值为 X 轴, 以 MAGLUMI4000 化学发光仪 2 次测定结果的均值为 Y 轴绘图, 进行方法比对。

2 结果

2.1 精密度试验结果 PCT 低值样本检测均值为 0.55 ng/mL, 变异系数(CV)分别为: $CV_{\text{批内}}=1.56\%$, $CV_{\text{批间}}=2.30\%$; PCT 中值样本检测均值为 8.30 ng/mL, $CV_{\text{批内}}=2.23\%$, $CV_{\text{批间}}=3.05\%$; 低值和中值样本 $CV_{\text{批内}}$ 、 $CV_{\text{批间}}$ 均符合厂家提供的标准($CV_{\text{批内}} \leq 5\%$, $CV_{\text{批间}} \leq 10\%$)。

2.2 线性评价结果 PCT 的多点线性回归方程为: $Y=0.997\ 22X+0.173\ 77, r^2=0.998\ 12$ 。新产业化学发光法检测 PCT 在 0.5~98.0 ng/mL 浓度范围内线性良好。

2.3 携带污染率 选择 PCT 高值(H)为 60.0 ng/mL 和低值(L)为 5.0 ng/mL 的样本进行检测, $H_1 \sim H_3$ 结果分别为 61.5、59.6、60.8 ng/mL, $L_1 \sim L_3$ 结果分别为 5.2、5.1、4.7 ng/mL; 携带污染率($\%$)= $(5.2-4.7)/(60.8-4.7) \times 100=0.89$ 。高值样本对低值样本的结果无明显携带污染。

2.4 相关性分析结果 以梅里埃荧光免疫分析法 2 次测定结果均值为参比, 新产业化学发光法 2 次测定结果均值为比较方法, 直线回归方程为 $Y=1.004X+0.005\ 59, r^2=0.999\ 58$, 两种方法测定相关性良好。

3 讨论

据 WHO 统计数据显示, 感染是造成人类死亡最重要的因素之一, 约占全球每年总体病死率的 25.5%。感染性疾病在临床主要包括细菌性和病毒性感染, 传统的实验室诊断包括白细胞计数、淋巴细胞计数、CRP 等炎症指标、胸部影像及相关病原菌培养, 但存在不能客观反映感染严重程度、敏感性不高、特异性差、阳性率低、耗时长等诸多缺点^[7], 不利于疾病的早期诊断及治疗干预。而 PCT 在感染发生 3 h 即可测得, 6~12 h 可达高峰, 且几乎不受肾功能状态、激素治疗的影响, 可反映炎症活动情况及严重程度, 具有更高的敏感性和特异性^[8], 作为一种新型炎症标志物, 近年来在临床应用十分广泛。

目前, PCT 检测方法众多, 且多以进口试剂为主, 如罗氏、西门子、生物梅里埃等, 但这些试剂与所用仪器采用封闭式系统, 即仪器与试剂必须配套使用方可保证检验结果的准确性, 因此检验试剂价格昂贵, 故而如果在基层医院采用进口仪器设备进行该项目的检测, 无疑增加了医疗成本。与之相对的是, 成本较低的国产仪器及试剂盒, 但国产试剂盒的检测效能需要进行验证。本次试验采用国产仪器及配套试剂进行 PCT 的检测, 试验结果显示: 采用品牌为新产业的化学发光检测系统进行 PCT 的检测, 其精密度良好, 低值样本的不精密度为 $CV_{\text{批内}} = 1.56\%$, $CV_{\text{批间}} = 2.30\%$; 中值样本为 $CV_{\text{批内}} = 2.23\%$, $CV_{\text{批间}} = 3.05\%$, 均小于厂家提供的 $CV_{\text{批内}} \leq 5\%$, $CV_{\text{批间}} \leq 10\%$, 完全符合有关规定要求。在 $0.5 \sim 98.0 \text{ ng/mL}$ 浓度范围内线性良好, $Y = 0.99722X + 0.17377$, $r^2 = 0.99812$, 该浓度范围为临床患者检测的常见范围, 可以满足临床诊断要求。检测系统携带污染率为 0.89% , 低于 3% 的要求, 样本间交叉污染小, 不会因为上一个较高浓度的 PCT 样本, 引起下一个低浓度样本升高, 因此可以满足检测要求; 通过与靶标仪器梅里埃 mini VIDAS 荧光免疫分析仪进行比较, 结果呈明显相关, $Y = 1.004X + 0.00559$, $r^2 = 0.99958$ 。

综上所述, 在新产业 MAGLUMI4000 化学发光仪上检测 PCT 的性能良好, 不会出现不正确或错误的检验结果, 且成本较进口试剂低廉, 操作简便, 可以单个或批量检测, 每小时可完成上百个测试, 完全可满足临床使用, 对于提高临床细菌感染的诊断水平, 降低医疗成本都具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 曹艳林, 刘德贝, 夏先考. 新生儿肺炎合并脓毒症患儿检测 · 临床研究 ·

测血清降钙素原和高敏 C 反应蛋白的临床价值[J]. 检验医学, 2014, 29(10): 1000-1003.

- [2] 曹校校, 李强, 陈荣. 降钙素原与 C-反应蛋白联合检测在成人细菌性肺炎中的临床评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(19): 4933-4935.
- [3] Ramirez P, Garcia MA, Ferrer M, et al. Sequential measurements of procalcitonin levels in diagnosing ventilator-associated pneumonia[J]. Euro Respir J, 2008, 31(2): 356-362.
- [4] CLSI. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [5] CLSI. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach[S]. Wayne, PA: CLSI, 2003.
- [6] CLSI. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples[M]. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI, 2002.
- [7] 陆一鸣. 降钙素原 PCT 感染诊治新技术[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(20): 2641-2642.
- [8] 吴修宇, 邓梦, 黎杨杨, 等. 降钙素原在感染性疾病中的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(1): 75-77.

(收稿日期: 2016-01-11 修回日期: 2016-03-20)

U266 多发性骨髓瘤细胞株中 CD138 阴性细胞的分离和培养

张 霞, 胡大春

(云南省昆明市第一人民医院检验科 650011)

摘要:目的 从 U266 多发性骨髓瘤细胞株中分离 CD138 阴性细胞, 对其进行培养, 观察分离到的 CD138 阴性细胞的生长特性。方法 用免疫磁珠法分离 U266 多发性骨髓瘤细胞株中的 CD138 阴性细胞, 用干细胞培养基进行培养。结果 从 U266 多发性骨髓瘤细胞株中分离 CD138 阴性细胞在干细胞培养基内呈球体生长。结论 CD138 阴性细胞具有干细胞生长的相关特征。

关键词:多发性骨髓瘤; CD138; 肿瘤干细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)14-1999-03

多发性骨髓瘤(MM)是一种主要发生于中老年人群的恶性浆细胞肿瘤, 在欧美国家血液肿瘤中的占比达 10% 。近年来, 随着我国进入老龄化社会, MM 的发病率已呈明显上升趋势^[1]。目前 MM 治疗措施已有大的进步。可同时针对 MM 细胞本身和其所处微环境进行大剂量化疗治疗, 这些大剂量化疗联合应用自体造血干细胞移植和(或)异体造血干细胞移植, 使得部分患者可获得完全缓解(CR), 但这些患者多数会出现复发。其复发的主要原因之一是存在于微量残留病灶(MRD), 即在患者的体内可能存在极少量能够诱导肿瘤复发的“种子细胞”或者说“肿瘤干细胞”^[2]。2012 年 Kawano 等^[3]发现, 复发、进展中的 MM 患者与未治疗的 MM 患者比较, CD138 阴性 B 细胞比例有着显著增加。通过实验研究也发现 CD138 阴性 B 细胞增多和 MM 患者的不良预后、细胞表型的更幼稚, 以及对

雷利度胺和治疗表现为低敏感, 这些特征都证明 CD138 阴性 B 细胞可能是 MM 肿瘤干细胞。

1 材料与方法

1.1 材料 人 MM 细胞 U266 购自中国科学院昆明动物研究所。

1.2 仪器与试剂 改良型 RPMI-1640 培养基购自 Gibco 公司; RNAiso Plus 购自 TaKaRa 公司; cDNA 逆转录试剂盒购自广州复能基因有限公司; LONZA X-VIVO 无血清培养基购自 LONZA 公司; rhIL-3、SCF 和 LIF 购自 PeproTech 公司; PE-CD138 抗体购自贝克曼公司; MicroBead CD138 抗体购自德国美天旌公司。

1.3 方法 U266MM 细胞株中 CD138 阴性细胞的分选和培养。首先对 U266 细胞进行预处理, 使用 MicroBead CD138 抗