

• 论 著 •

氨基酸及肉碱非衍生化串联质谱法检测系统的性能验证

田明新, 张道杰, 崔小昭, 常海涛, 孙佳惠, 计妮妮, 卢东裕

(北京圣元惠仁医学检验所生化遗传室 101101)

摘要:目的 按照 ISO15189-2012《医学实验室质量和能力的要求》对 Waters 公司 ACQUITY TQD 串联质谱仪及其配套试剂、PerkinElmer 公司 NeoBase™ Non-derivatized MSMS kit 在测定氨基酸和肉碱方面进行性能验证。方法 按照美国临床实验室标准化协会指南文件 EP15-A2《用户对精密度和准确度性能的核实实验——批准指南》提供的方法,对检测系统进行正确度和精密度验证;按照卫生部行业标准 WS/T408-2012《临床化学设备线性评价指南》提供的方法,对其进行线性范围验证。结果 6种氨基酸和7种肉碱的相对偏倚为 0.13%~11.34%,均小于 1/2 允许总误差;批内精密度为 0.55%~4.78%,均小于 1/4 允许总误差;期间精密度除缬氨酸低水平外,为 2.52%~7.95%,小于 1/3 允许总误差;瓜氨酸、苯丙氨酸、游离肉碱在厂家给出的线性范围内呈一阶线性,缬氨酸呈二阶线性,其余呈三阶线性。结论 氨基酸及肉碱非衍生化串联质谱法配套检测系统的性能特征验证通过,可按照常规临床化学检测系统进行管理和要求。

关键词:串联质谱仪; 性能验证; 正确度; 精密度; 线性范围

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.21.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)21-3021-04

Verification of the performance of non-derivatized tandem mass spectrometry method in detecting the amino acids and carnitines

TIAN Mingxin, ZHANG Daojie, CUI Xiaozhao, CHANG Haitao, SUN Jiahui, JI Weiwei, LU Dongyu

(Department of Biochemical Genetics of Beijing Shengyuan Hui ren Clinical Laboratory Ltd., Beijing 101101, China)

Abstract: **Objective** To verify the performance of Waters ACQUITY TQD tandem mass spectrometry and PerkinElmer NeoBase™ Non-derivatized MSMS kit in detecting the amino acids and carnitines. And ISO15189-2012 Medical laboratories-Requirements for quality and competence were the reference. **Methods** The accuracy and precision were verified according to Clinical and Laboratory Standards Institute documents, EP15-A2 User Verification of Performance for Precision and Trueness: Approved Guideline. The linear ranges were verified according to industry regulations of Ministry of Health, WS/T 408-2012 Linear Evaluation Guideline of Clinical Chemistry Equipment. **Results** The relative bias of 6 kinds of amino acids and 7 kinds of carnitines were from 0.13% to 11.34%, which were all lower than 1/2 total error. The within precisions were from 0.55% to 4.78%, which were all lower than 1/4 total error. And the intermediate precisions were from 2.52% to 7.95%, which were all lower than 1/3 total error except valine low level. The linear ranges of citrulline, phenylalanine and free carnitine were into first order linear within the linear range provided by the company. Valine was into second order linear and the rest amino acids were into third order linear. **Conclusion** The verification of performance of non-derivatized tandem mass spectrometry method in detecting the amino acids and carnitines are passed, and it can be managed and requested in accordance with the routine clinical chemical detection system.

Key words: tandem mass spectrometer; performance verification; accuracy; precision; linear range

根据国家卫生和计划生育委员会临床检验中心数据,2013 年参加其组织的室间质评实验室中采用非衍生串联质谱 PerkinElmer NeoBase 试剂盒与衍生非配套试剂盒进行氨基酸和肉碱检测的实验室比例为 8:16,2014 年为 20:21,2015 年为 34:17。非衍生串联质谱法因其前处理时间短,试剂对环境污染小等优点逐渐取代衍生化方法^[1-2],而试剂盒产品因其在研发阶段由厂家负责优化和验证^[3],且可溯源至参考物质或参考方法^[4],也正逐步取代自配试剂。然而,对于串联质谱仪与其配套试剂所组成的检测系统能否满足实验室预期用途^[5],按照国际标准化组织(ISO)提供的医学实验室专用指南 ISO15189-2012《医学实验室质量和能力的要求》,需用户进行独立验证^[6]。但实际上,却少有实验室进行验证,个别进行验证的实验室,所采用的方法也过于简单或陈旧,没有依据最新国际相关标准、国家标准及行业标准执行,造成其在串联质谱遗传代谢病筛查、诊断领域存在不少问题。基于以上现状,本实验室特对 Waters 公司 ACQUITY TQD 串联质谱仪及其

配套试剂、PerkinElmer 公司 NeoBase™ Non-derivatized MSMS kit 所组成的氨基酸和肉碱配套检测系统,按照最新标准进行性能验证^[7-8]。验证内容包括正确度、精密度和线性范围,验证对象包括瓜氨酸(CIT)、亮氨酸(LEU)、蛋氨酸(MET)、苯丙氨酸(PHE)、酪氨酸(TYR)、缬氨酸(VAL)和游离肉碱(C0)、丙酰肉碱(C3)、异戊酰肉碱(C5)、辛酰肉碱(C8)、十二碳酰肉碱(C12)、十六碳酰肉碱(C16)和十八碳酰肉碱(C18)共 13 种。

1 资料与方法

1.1 一般资料 样本均为滤纸干血斑标本。正确度验证样本来源于国家卫生和计划生育委员会临床检验中心新生儿遗传代谢病串联质谱筛查的氨基酸和酰基肉碱室间质评样本。精密度验证样本来源于美国疾病预防控制中心室间质评样本。线性范围验证样品来源于本实验室既往检测过的患者标本。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 检测系统 仪器为美国 Waters 公司的串联质谱系统

(包括串联质谱仪 ACQUITY TQD、高效液相色谱仪 1525 μ 、自动进样器 2777C);试剂为美国 PerkinElmer 公司的非衍生化多种氨基酸、肉碱和琥珀酰丙酮测定试剂盒(包括氨基酸内标标准品、酰基肉碱内标标准品、干血斑质控品、V 型底耐热微孔板、V 型截底洁净微孔板、铝箔制微孔板封套、黏性微孔板封套)和溶剂包(包括萃取液和流动相)。

1.2.2 辅助仪器试剂 孵育振荡器(Thermo IEMS Incubator/Shaker HT)、甲醇,均为美国 Thermo Fisher 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 正确度验证方法 选取国家卫生和计划生育委员会临床检验中心 2015 年第 2 次室间质评标本 AA201522、AA201525 和 AC201522、AC201525,其中 AA201522 和 AA201525 为 6 项氨基酸低水平和高水平正确度验证标本,AC201522 和 AC201525 为 7 项肉碱低水平和高水平正确度验证标本。用直径 3.2 mm 打孔器在滤纸干血斑上各打 1 孔取样,至于 V 型截底洁净微孔板,每孔加入内标工作液 100 μ L,45 $^{\circ}$ C 密封振荡 45 min,提取 75 μ L 萃取液转移至 V 型底耐热微孔板,铝箔覆盖,上机检测,每标本每天重复测定 2 次,共 5 d。

1.3.2 精密度验证方法 选取美国疾病预防控制中心 2015 年第 2 次室间质评标本 AA1522、AA1524 和 AC1562、AC1564,其中 AA1522 和 AA1524 为 6 项氨基酸精密度的低水平和高水平标本,AC1562 和 AC1564 为 7 项肉碱精密度的低水平和高水平标本。前处理与正确度验证试验相同,上机后每标本每天重复测定 3 次,共 5 d。

1.3.3 线性范围验证方法 选取本实验室既往检测过的高值和低值可覆盖厂家线性范围的氨基酸、肉碱滤纸干血斑标本,部分项目不能覆盖厂家线性范围时,只验证本实验室检测到的最高或最低水平范围。用直径 3.2 mm 打孔器在高值和低值滤纸干血斑上各打 4 孔取样,置于 V 型截底洁净微孔板,每孔加入内标工作液 100 μ L,45 $^{\circ}$ C 密封振荡 45 min,每孔吸取 75 μ L,将 4 孔高值标本萃取液 H 和 4 孔低值标本萃取液 L 分别混合,按 4L+3L+1H、2L+2H、1L+3H、4H 配制成 5 个水平的萃取液,各转移 100 μ L 至 V 型底耐热微孔板,铝箔覆盖,上机检测,每个水平重复测定 4 次,1 d 内完成。

1.4 统计学处理

1.4.1 正确度验证 采用 Microsoft Excel 2007 软件按照 CLSI EP15-A2《用户对精密度和准确度性能的核实实验——批准指南》提供的方法计算正确度验证区间,若区间涵盖卫生部室间质评小结提供的标准物质靶值,则通过验证;若区间不涵盖靶值,需进一步计算实验室相对偏倚(Bias),并与标准相对偏倚[1/2 允许总误差(TEA),氨基酸 TEA 为 25%,肉碱为 30%]进行比较,当实验室相对偏倚小于 1/2 TEA 时,正确度验证通过,否则未通过。正确度验证区间 I、测量方法标准误 $S_{\bar{x}}$ 、参考物质标准误 $S_{\bar{a}}$ 、测量方法标准差 S_x 、Bias 计算如式(1)至式(5)。

$$I = \bar{x} \pm t_{\alpha, \gamma} \sqrt{S_x^2 + S_a^2} \tag{1}$$

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{S_x^2}{N}} \tag{2}$$

$$S_{\bar{a}} = \sqrt{\frac{S_a^2}{m}} \tag{3}$$

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \tag{4}$$

$$Bias(\%) = \frac{\bar{x} - x}{x} \times 100\% \tag{5}$$

其中, \bar{x} 表示所有测量结果的均值; $t_{\alpha, \gamma}$ 表示 t 界值, $\alpha = 0.05$, $\gamma = n \times (D - 1)$, 例如, 2 次重复, 连续 5 d, $\gamma = 2 \times 5 - 1 = 9$, 此时 $t_{\alpha, \gamma} = 2.262$; N 表示总检测次数 = $n \times D$, 例如, 2 次重复, 连续 5 d, $N = 2 \times 5 = 10$; S_a 表示卫生部室间质评小结提供的标准物质组内标准差; m 表示卫生部室间质评小结提供的标准物质靶值数量; x_i 表示为单次测量数据; X 表示卫生部室间质评小结提供的标准物质靶值。

1.4.2 精密度验证 采用 Microsoft Excel 2007 软件按照 CLSI EP15-A2《用户对精密度和准确度性能的核实实验——批准指南》提供的方法计算批内精密度(CV_R)和期间精密度(CV_L),将 CV_R 和 CV_L 分别与厂家声明值(CV_R 1/4 TEA, CV_L 为 1/3 TEA)比较。小于厂家声明值,验证通过;否则计算 CV_R 和 CV_L 验证值,并与之进行比较,小于验证值则判定通过,否则判定未通过。

CV_R 、批内标准差(S_R)、 CV_L 、期间标准差(S_L)、批间标准差(S_B)、批内精密度验证值($CV_{R-验}$)、期间精密度验证值($CV_{L-验}$)、期间精密度有效自由度 T 计算如式(6)至式(13)。

$$CV_R = S_R / \bar{X} \tag{6}$$

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{i=1}^n (x_{di} - \bar{x}_d)^2}{D(n-1)}} \tag{7}$$

$$CV_L = S_L / \bar{x} \tag{8}$$

$$S_L = \sqrt{\frac{n-1}{n} \times S_R^2 + S_B^2} \tag{9}$$

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D (\bar{x}_d - \bar{x})^2}{D-1}} \tag{10}$$

$$CV_{R-验} = \frac{CV_{R-F} \cdot \sqrt{C}}{\sqrt{V}} \tag{11}$$

$$CV_{L-验} = \frac{CV_{L-F} \cdot \sqrt{C}}{\sqrt{T}} \tag{12}$$

$$T = \frac{[(n-1)S_R^2 + (n \cdot S_B^2)]^2}{(\frac{n-1}{D} S_R^2) + (\frac{n^2 \cdot S_B^2}{D-1})} \tag{13}$$

式中: \bar{x} 表示所有检测结果的均值; x_{di} 表示每天测定的结果; \bar{x}_d 表示每天测定结果的均值; D 表示试验天数,共 5 d; n 表示每天重复测定次数,共 3 次; V 表示批内精密度有效自由度, $V = D(n - 1) = 10$; C 表示差异有统计学意义时,卡方分布临界值($P = 0.05, V = 10$ 时, $C = 20.48$); CV_{R-F} 表示厂家声明值的批内精密度; CV_{L-F} 表示厂家声明值的期间精密度。

1.4.3 线性范围验证 采用 Microsoft Excel 2007 软件按照 WS/T408-2012《临床化学设备线性评价指南》提供的方法进行统计和计算。首先,按 Grubbs 法对重复测定的数据组检验离群值,剔除大于临界值的检测值。其次,计算不精密度,剔除离群值后最优拟合方程标准误 σ 和样本测定数据平均值 \bar{C} 的百分比率。按 PctBnd 取 5% 计算不精密度界值,即 $PctBnd \sqrt{\frac{n}{c}}$

其中 C 为常数,当最优拟合方程阶数为一阶或二阶时, C 值为 6.3; 最优拟合方程阶数为三阶时,其值为 6.5。将不精密度与临界值进行比较,小于临界值表示精密度合格,可进行线性评价;将检测数据进行多项式回归分析,通过 t 检验判断非线性系数差异是否具有统计学意义,将计算所得 t 值与相应 t 界值比较,若二阶或三阶回归方程的非线性系数与零差异无统计学意义,则判定数据组具有一线性;若任意 1 个非线性系数与零差异有统计学意义,则需对数据组采用最优拟合曲线与直线

的平均差异值 *ADL* 进行非线性程度判断;*ADL* 小于临界值,判定为临床可接受非线性,否则为临床不可接受非线性。在一阶线性范围或临床可接受非线性(二阶或三阶线性)范围内的数据即为线性范围。

Grubbs 法统计量 *T*、最优拟合方程标准误 σ 、样本测定数据平均值 \bar{C} 、*t* 检验、自由度 *df*、最优拟合曲线与直线的平均差异值 *ADL* 计算如式(14)至式(19)。

$$T = \frac{|y_i - \bar{y}|}{s} \tag{14}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - p(x_i)]^2}{n - d - 1}} \tag{15}$$

$$\bar{C} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n} \tag{16}$$

$$t = \frac{b_i}{SE_i} \tag{17}$$

$$df = L \times R - Rdf \tag{18}$$

$$ADL = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [p(x_i) - (b_0 + b x_i)]^2}{n}}}{\bar{C}} \times 100\% \tag{19}$$

其中, y_i 表示样品第 *i* 次测定结果; \bar{y} 表示重复测定结果均值; *s* 表示重复测定结果标准差; $p(x_i)$ 表示最优拟合方程的拟合值; *n* 表示剔除离群值后样本测定次数之和; *d* 表示最优拟合方程的阶数; b_i 表示多元回归方程的回归系数; SE_i 表示每个非线性系数的斜率标准误; *L* 表示样本数; *R* 表示重复测定次数; *Rdf* 表示回归自由度,即回归方程中系数的个数,一阶回归方程中其值为 2,二阶为 3,三阶为 4; $b_0 + b x_i$ 表示拟合一阶方程的拟合值。

2 结 果

2.1 正确度验证 CIT、TYR、C5、C12、C18 水平及 MET、VAL、C8 低水平和 LEU、C0、C16 高水平验证区间均涵盖靶值,即用验证区间验证法通过正确度验证;其余项目进一步计算 *Bias*,通过比较均小于标准相对偏倚,即用 *TEA* 验证法通过正确度验证。全部 13 个项目正确度验证均通过。

2.2 精密度验证 除 VAL 低水平 CV_L 外均小于厂家声明值,即用厂家声明值验证法通过精密度验证;VAL 低水平 CV_L 大于厂家声明值,需计算其验证值并进行比较。通过比较,VAL 低水平 CV_L 小于验证值,故用验证值再验证法通过精密度验证。全部 13 个项目精密度验证均通过。

2.3 线性范围验证 CIT、LEU、PHE、VAL 线性范围上、下限验证均通过;MET、TYR、C0、C3、C5、C8、C12、C16、C18 线性范围下限验证通过,上限由于 PerkinElmer 公司给出线性范围超出本实验室检测标本水平范围,暂未进行验证,目前仅验证至本实验室可检测的最高水平范围,且验证通过。见表 1、表 2。

表 1 氨基酸性能验证结果

项目	标本编号	CIT	LEU	MET	PHE	TYR	VAL
<i>Bias</i> (%)	AA201522	-4.69	-5.80	2.57	-11.34	-3.83	1.52
	AA201525	-2.13	-1.27	9.38	-7.94	1.97	5.98
CV_R (%)	AA1522	4.78	0.76	2.43	0.95	2.32	1.06
	AA1524	3.25	0.55	1.91	0.73	1.46	1.03
CV_L (%)	AA1522	5.57	2.52	3.68	7.91	3.57	8.47
	AA1524	5.36	5.33	4.18	4.07	4.98	5.58
<i>LL</i>	—	28.00	266.00	31.00	79.00	75.00	197.00
<i>UL</i>	—	1 716.00	2 992.00	644.13	2 607.00	1 484.21	2 300.00

注:*LL* 表示线性范围下限;*UL* 表示线性范围上限;—表示无数据。

表 2 肉碱性能验证结果

表示方式	标本编号	C0	C3	C5	C8	C12	C16	C18
<i>Bias</i> (%)	AC201522	-7.17	-9.67	-0.13	1.72	-5.10	-11.12	-0.82
	AC201525	-0.17	-7.30	4.53	9.18	-3.15	-6.78	6.99
CV_R (%)	AC1522	3.75	1.69	3.66	1.83	1.65	1.40	1.71
	AC1524	1.61	1.25	2.32	1.86	0.88	0.82	2.71
CV_L (%)	AC1522	5.34	4.39	4.63	4.48	3.85	3.97	3.63
	AC1524	7.95	6.12	6.73	5.8	5.52	6.16	6.75
<i>LL</i>	—	51.00	3.30	0.20	0.05	0.05	2.30	2.20
<i>UL</i>	—	1 460.19	29.31	14.35	2.65	2.75	10.37	5.61

注:*LL* 表示线性范围下限;*UL* 表示线性范围上限;—表示无数据。

3 讨 论

本研究通过对正确度和精密度的验证发现,Waters 公司 ACQUITY TQD 串联质谱仪及其配套试剂 PerkinElmer 公司 NeoBase™ Non-derivatized MSMS kit 所组成的氨基酸和肉碱检测系统,其 *Bias* 为 0.13%~11.34%,均小于 1/2 *TEA*,但不同检测项目的偏倚范围相差较大,即使同一检测项目其高值和低值偏倚程度也无规律可循,可能与各检测项目的内标准品稳定性不同有关; CV_R 为 0.55%~4.78%,除 VAL 低水平外批间精密度的 2.44%~7.87%, CV_L 为 2.52%~7.95%,符合临床化学检测系统期间精密度大于批间精密度大于批内精密度的一般规律。VAL 低水平 CV_L 虽然大于厂家声明值,但是小于其验证值,故通过精密度验证。

线性范围验证试验方案的设计重点在于如何获取系列水平样本。有学者采用打孔后取 1、1/2、1/4、1/8 血斑获取系列水平样本^[9],但该法由于打卡后血斑太小(3.2 mm)而不易于获取理想水平标本。本研究通过摸索,找到获取系列水平标本方法:将高、低水平滤纸干血斑标本分别打 4 孔,正常孵育振荡,提取萃取液后再将高、低水平萃取液按不同比例混合制成所需水平梯度水平样本。此外,通过对线性范围验证发现,厂家提供某些产品项目的线性范围较窄,不能覆盖日常检测标本的水平范围。如厂家的 CIT 线性范围为 28~1 716 μmol/L,功能敏感性为 4.7 μmol/L,而本实验室标本中 CIT 最低水平值为 1.77 μmol/L,不仅低于厂家线性范围下限,也低于功能敏感性,且其他检测项目也有类似现象。故厂家的线性范围或可报告范围还需进一步扩展^[10],实验室也应根据实际情况各自建立线性范围。

综上所述,本研究对氨基酸及肉碱串联质谱法配套检测系统的性能特征进行验证,认为虽在标本类型^[11]、前处理、检测原理等方面与常规临床化学设备显著不同,但该检测系统仍可按照常规临床化学检测系统的相关标准进行管理和要求^[12]。

参考文献

[1] 张捷,胡晓舟.液相色谱与串联质谱在检验医学中的应用[J].中华检验医学杂志,2005,28(8):873-874.

[2] 韩连书,高晓岚,叶军,等.串联质谱分析干血滤纸片酰基肉碱方法的建立[J].中华检验医学杂志,2005,28(1):88-91.

[3] 李水军.液相色谱-质谱联用技术临床应用[M].上海:上海科学技术出版社,2014.

[4] 费阳,王薇,王治国.室内质量评价计划与临床检验的标准化/一致化[J].中华检验医学杂志,2015,38(5):359-360. (下转第 3026 页)

仅有极少数个体发生恶性肿瘤,且 EBV 感染个体不论有否发生恶性肿瘤均可产生一系列抗体^[8]。EBV 与鼻咽癌关系密切,目前常规采用的 EBV 血清学检查项目 VCA-IgA 和 EA-IgA 仍是鼻咽癌患者临床筛查、辅助诊断及疗效判断的观察指标。而血浆中的 DNA 测定在临床分型和鼻咽癌疗效检测方面比 VCA-IgA 和 EA-IgA 更有价值,特异性和敏感性更高^[9]。但是,单纯定性地测定血浆中的 DNA 意义不大,半定量测定 DNA 需要昂贵的仪器和试剂,对实验室要求高。所以,需要在免疫学上寻找 EBV 特异性抗原及其抗体的不同检测方法,降低成本,提高临床性能。

通过对 VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法的研究试验,发现该方法最低检测限与检测系统有关,如包括微孔板孔差、酶标仪稳定性、电压低噪音等。血清 IgA 水平与吸光度线性相关高度相关,线性相关系数达 0.970 9,血清测定线性范围在稀释 100 倍(及以上)时有较好线性,表明该方法临床采用可行,所需标本量不大。精密性试验显示,VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法的日内变异系数虽在可接受范围内,但日间变异系数存在大于 10% 的情况,表明其稳定性还需进一步改进及论证。回收试验结果表明,VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法准确度可靠,平均回收率达 96.6%。

分别采用 EBNA1+EB-VCA-p18 联合包被 ELISA 微孔板和 VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 微孔板检测 140 例标本,结果相关系数为 0.926 6,*t* 检验显示 2 种方法差异无统计学意义($P>0.05$),具有可替代性。箱图表明,2 种方法中鼻咽癌患者和健康人群的中位数差距比较显著,阴、阳性判断可靠性较好;2 组中位数上下 25% 不相交,可认为 VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法可用于疾病诊断。

从临床效能 ROC 曲线分析,EBNA1+EB-VCA-p18 联合包被 ELISA 方法 Cut-off 值(0.215)小于 VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法(0.242),2 种方法的敏感性均为 88.90%,表明 2 种方法诊断能力相当;特异性方面,VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法(77.80%)小于 EBNA1+EB-VCA-p18 联合包被 ELISA 方法(80.60%),提示前者鉴别未患 NPC 能力稍弱。VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法 PPV、NPV 都高于 80%,表明其鉴别能力较好。VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法的 4 个指标均小于 EBNA1+EB-VCA-p18 联合包被 ELISA 方法,表明前者与后者存在一定差距;且其低于 Fachiroh 等^[10]报道的数据,表明其还有改进的空间。从探索新方法检测血清中 IgA 水平上看,VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法的敏感性和 NPV 已经可以满足临床疾病筛查。

ELISA 发展已久,已成为一项成熟检测工艺,其检测血液中的抗原(抗体)相对比较开放,只要包被不同抗原(抗体)和提

供酶标二抗,就可检测标本中相应抗体(抗原),并可尝试用不同的抗原检测病毒血清抗体^[11],以寻求临床早期诊断和疾病疗效监测的最佳监测条件。VCA+EA 多肽片段联合包被 ELISA 方法作为一种改进方法,可称为提高医疗技术水平的 1 种新途径。

参考文献

- [1] Chan AT, Teo PM, Huang DP. Pathogenesis and treatment of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Semin Oncol*, 2004, 31(6):794-801.
- [2] 胡维维,宗永生,李凤萍,等. 6 种抗 EB 病毒抗体检测在鼻咽癌血清学诊断中的比较[J]. *中国肿瘤临床*, 2006, 33(14):795-798.
- [3] 王军,崔德威. 鼻咽癌早期诊断的研究进展[J]. *广东医学院学报*, 2003, 21(6):579-581.
- [4] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 4 版. 上海:上海科学技术文献出版社, 2003:111-113.
- [5] 钱士匀. 临床生物化学和生物化学检验试验指导[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2003:76-78.
- [6] 倪宗瓚. 医学统计学[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社, 2006:26-27.
- [7] 李萍. 临床实验室管理学[M]. 12 版. 北京:高等教育出版社, 2006:29-43.
- [8] 钟碧玲,张敏,莫建坤. 健康成人外周血 EB 病毒感染 98 例的研究[J]. *第一军医大学分校学报*, 2005, 28(1):3-5.
- [9] Shao JY, Li YH, Gao HY, et al. Comparison of plasma Epstein-Barr virus (EBV) DNA levels and serum EBV immunoglobulin A/virus capsid antigen antibody titers in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer*, 2004, 100(6):1162-1170.
- [10] Fachiroh J, Paramita DK, Hariwiyanto B, et al. Single-assay combination of Epstein-Barr virus (EBV) EBNA1 and viral capsid antigen-p18-derived synthetic peptides for measuring anti-EBV immunoglobulin G (IgG) and IgA antibody levels in sera from nasopharyngeal carcinoma patients: options for field screening[J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44(4):1459-1467.
- [11] 伊强,王文华,陈丹,等. 以合成肽为抗原建立 ELISA 试验检测鼻咽癌患者 EB 病毒抗体的研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2008, 15(8):610-611.

(收稿日期:2016-02-03 修回日期:2016-04-23)

(上接第 3023 页)

- [5] 张秀明. 浅析定量检验程序分析性能验证试验方案设计[J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(6):428-430.
- [6] 中国合格评定国家认可委员会. ISO 15189-2012. 医学实验室质量和能力认可准则[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会, 2012.
- [7] CLSI. EP 15-A2-2005 User verification of performance for precision and trueness, approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA, USA:CLSI, 2005.
- [8] 中华人民共和国卫生部. WS/T 408-2012. 临床化学设备线性评价指南[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2012.
- [9] 田国力,龚振华,王燕敏. 非衍生化串联质谱法检测酰基

肉碱方法的应用[J]. *检验医学*, 2011, 26(9):598-601.

- [10] 王志国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京:人民卫生出版社, 2009.
- [11] 段义飞,崔亚利,江永梅. 干血斑用于新生儿遗传代谢病筛查的方法学进展[J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(4):220-222.
- [12] 尚世强,杨建滨. 新生儿疾病筛查和诊断的发展及存在的问题与思考[J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(4):217-219.

(收稿日期:2016-02-07 修回日期:2016-04-27)