



ISSN 1674-6929

CN 44-1656/R

邮发代号: 46-203

分子诊断与治疗杂志

FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2015年9月 第7卷 第5期 总第39期

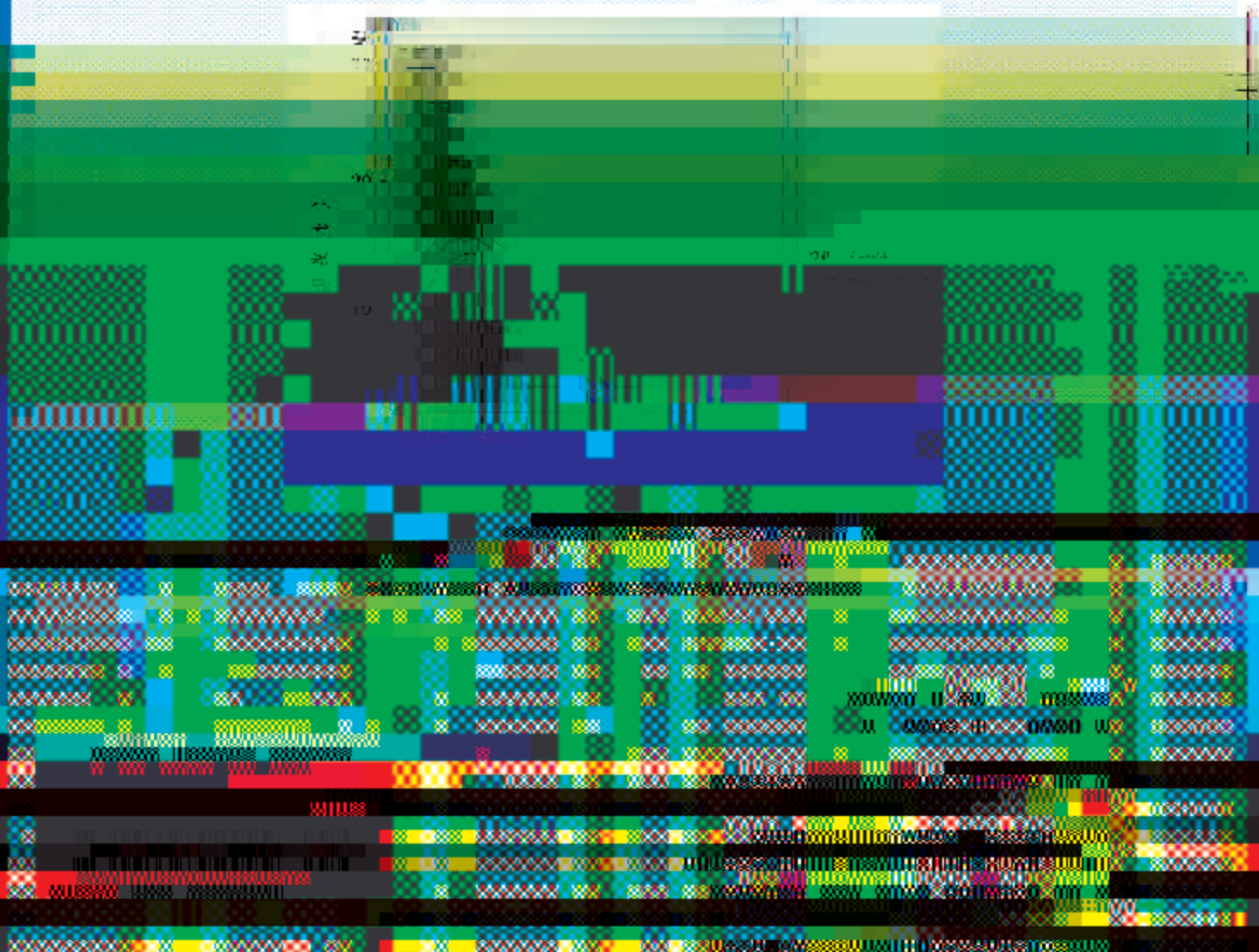
JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 7 Number 5 September 2015

分子诊断与治疗杂志

二〇一五年九月





张 军

张军，1972年7月出生。1997年毕业于上海医科大学，获医学硕士学位。

教授，博士生导师。现任厦门大学公共卫生学

院副院长、国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心副主任。为中华医学会微生物学与免疫学分会第八届委员会青年委员会副主任委员、全国临床医学计量技术委员会

分子诊断与治疗杂志

双月刊 2015年9月 第7卷 第5期

目次

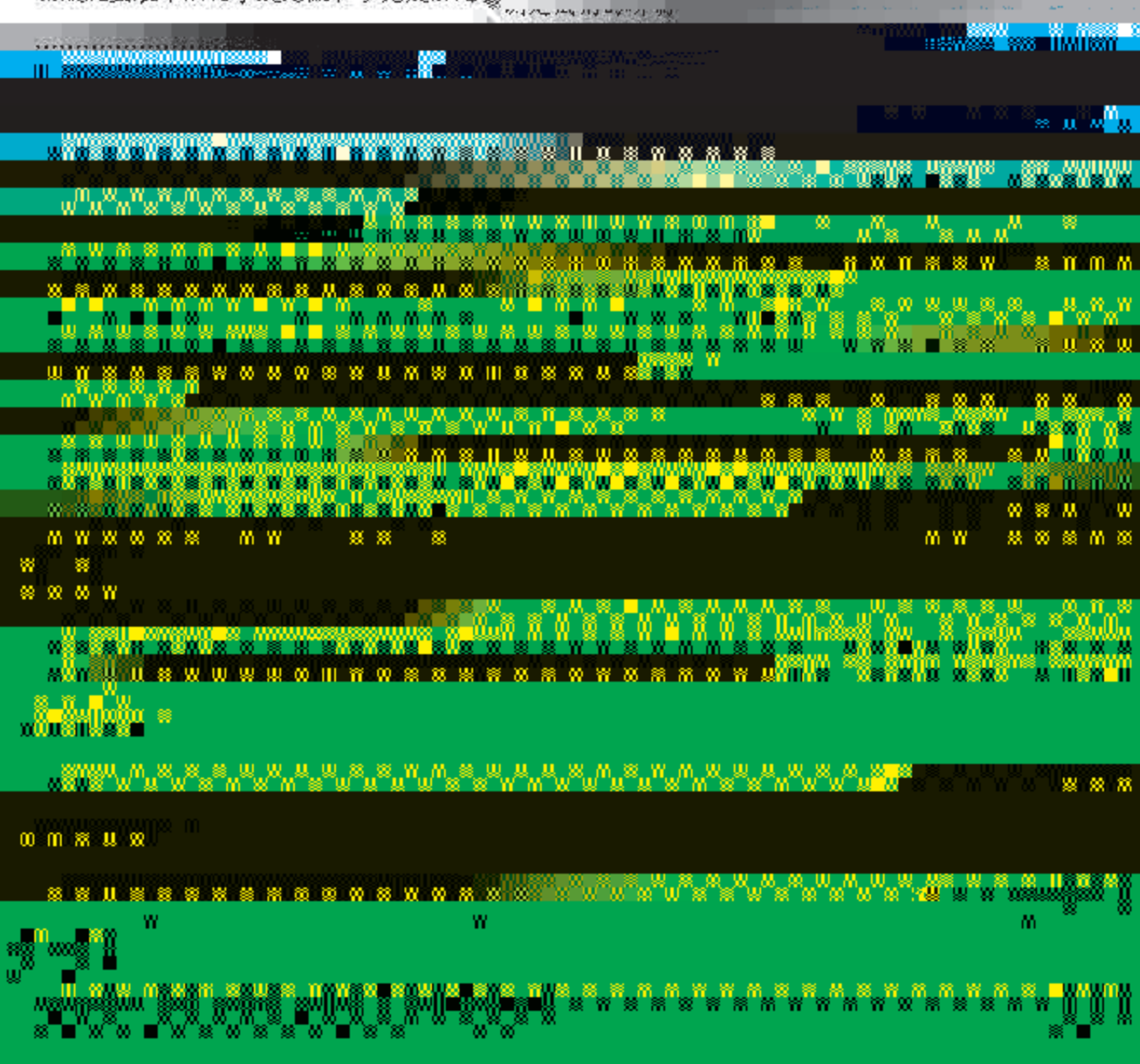
述 评

化学发光免疫分析法的研究进展 陆龙飞 葛胜祥 张军 (289)

论 著

基于全自动管式化学发光免疫检测系统的人结核感染T细胞检测方法的建立
..... 陈鹭颖 林海军 翁祖星 等 (296)

硫酸脱氢表雄酮化学发光微粒子免疫法定量测定试剂的研制



JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Bimonthly Volume 7 Number 5 September 2015

CONTENTS

COMMENTS

Review on the development of chemiluminescence immunoassay

..... LU Longfei, GE Shengxiang, ZHANG Jun (289)

ORIGINAL ARTICLES

Development of detection kit for T cell infected with *Mycobacterium tuberculosis* based on full-automatic chemiluminescence immune analyzer

..... CHEN Linyun, LI Di, HAN Jun, WANG Zhen, HU Jie, LI E, HUANG Jie, ZHANG Xiang (295)

Development of detection kit for T cell infected with *Mycobacterium tuberculosis* based on full-automatic chemiluminescence immune analyzer

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Bimonthly Volume 7 Number 5 September 2015

CONTENTS

The research of free thyroxine linearity and recovery ex

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----

·述 评·

【编者按】

... 20世纪90年代...
... 国内经济的快速增长,国内各类大型医院对价格的承受能力明显上升,纷纷引进了进口全自动化学发光免疫分析仪...

... 国内体外诊断试剂...
... 自动化生产...

... 进口打靶靶靶靶...

... 设备检测系统...

... 医学材料化学...

... 目前虽有个别厂家...

... 厂家的约在左此,这...

... 对于...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

... 评价...

Review on the development of chemiluminescence immunoassay

LU Longfei, GE Shengxiang, ZHANG Jun*

(National Institute of Diagnostic and Reference Laboratory, Beijing, China)



[The following text is extremely faint and illegible due to the severe image distortion. It appears to be the main body of the review article.]

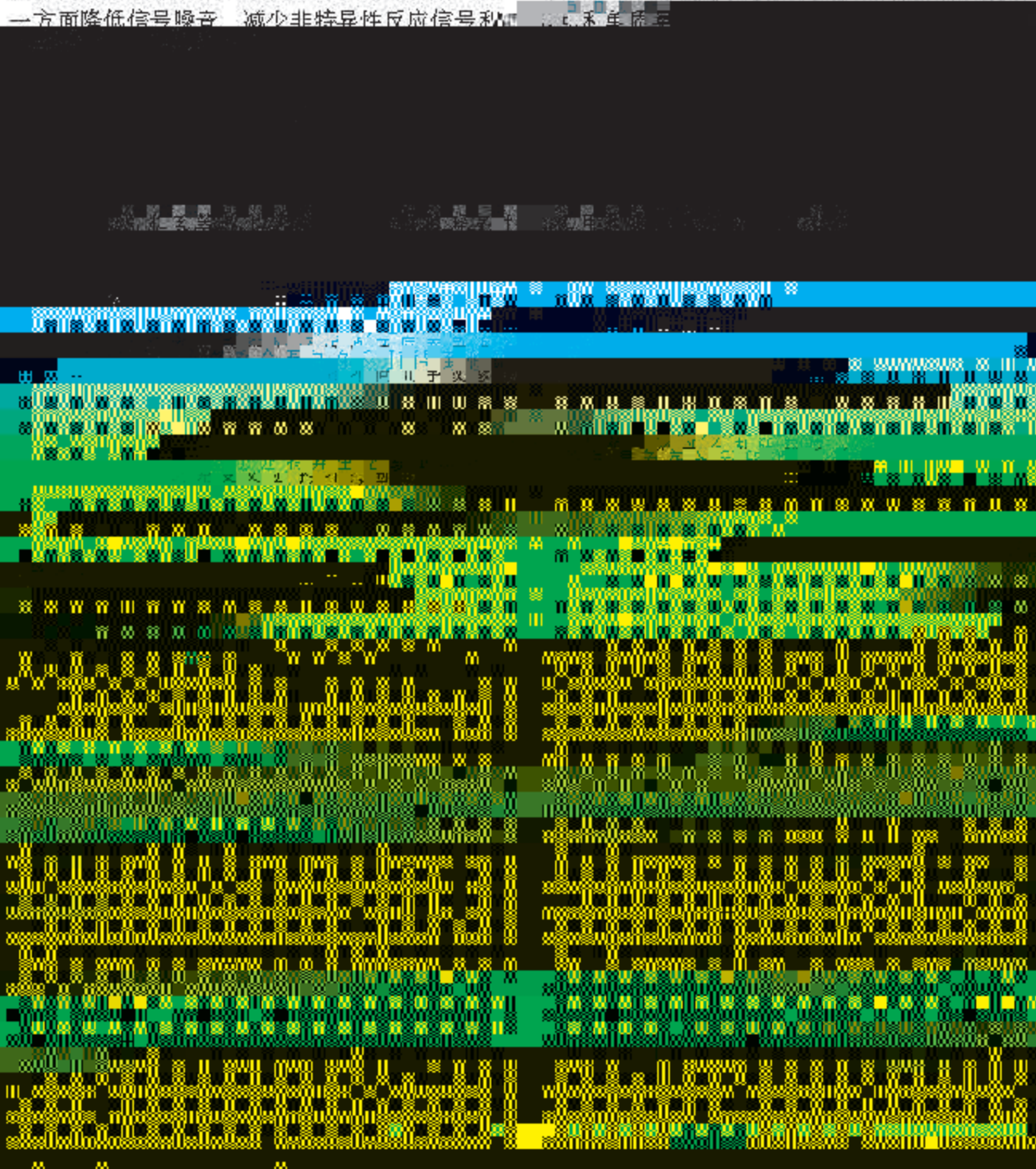
的应用,对其各方面要求和需求也发生了改变,在应用了大量新技术、新材料的基础上,化学发光免疫分析法呈现出高灵敏度、高通量和自动化的发展趋势。

2.1 高灵敏度检测

实际应用中常涉及到样品丰度低、信噪比低、稳定性差和信号干扰等问题。为解决化学发光免疫分析的实用性,需要提高其灵敏度和稳定性:一方面降低信号噪音,减少非特异性反应信号和

修饰电极,大大改善了ITO电极用于ECLIA时TPA氧化率低和ITO表面不稳定的问题,提高了发光的稳定性和灵敏度。

量子点(QDs)具有尺寸可调的光学特性和高荧光量子产率,是生物荧光标记物的理想光学材料。但是量子点化学发光也存在着自身的缺点,比如QDs-ECL需要高发光电位,发光强度低等问题。通过改造量子点比如核壳结构量子点、掺杂型量子

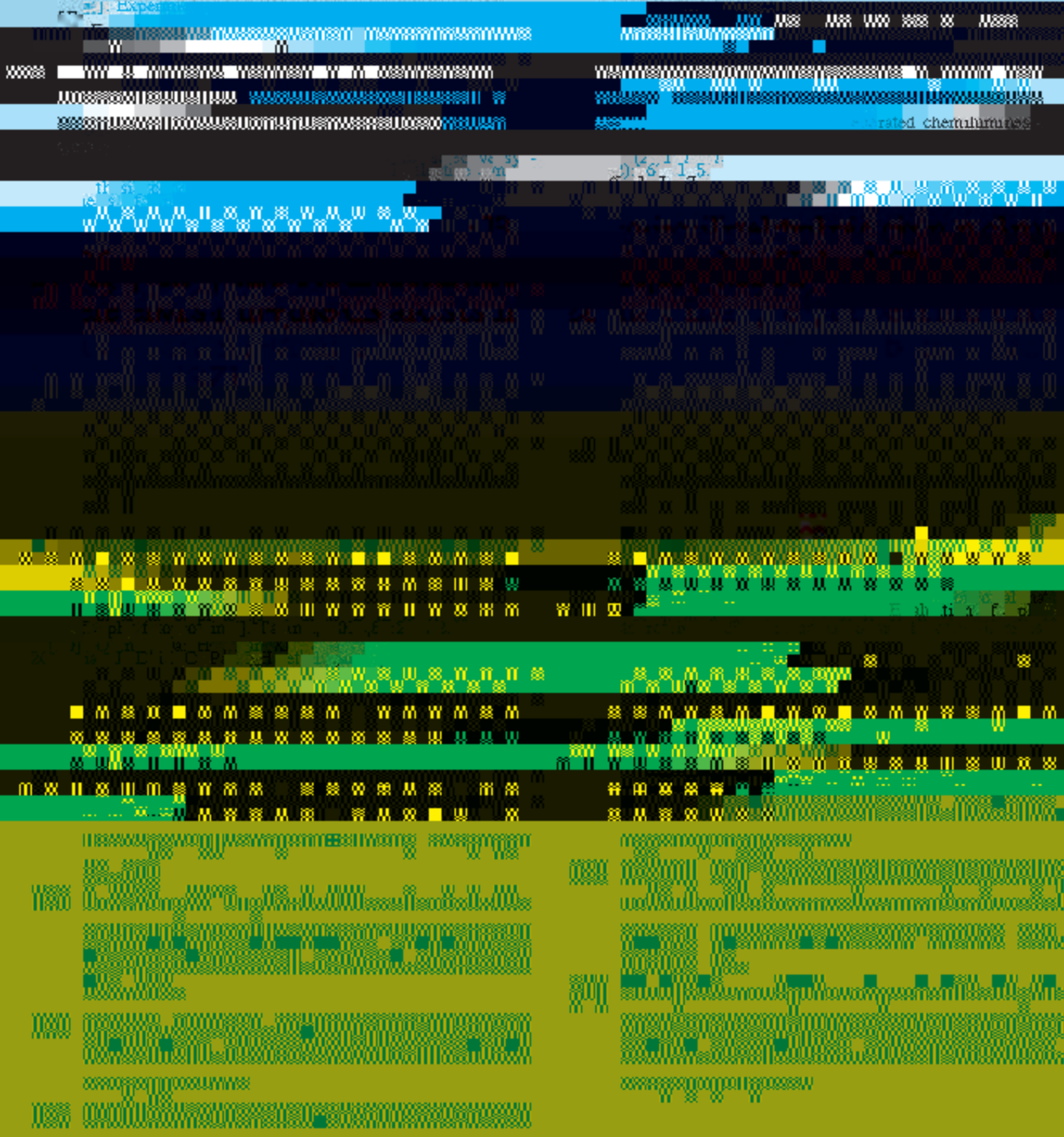




- [13] Brockmann EC, Vehniainen M, Pettersson K. Use of high-capacity surface with oriented recombinant antibody fragments in a 5-min immunoassay for thyroid-stimulating hormone[J]. *Analytical Biochemistry*, 2010, 396(2):242-249.
- [14] Holec-Gasier L, Kur J. Toxoplasma gondii: Recombinant GRA5 antigen for detection of immunoglobulin G antibodies using enzyme-linked immunosorbent assay

gy for one-way multiplexed immunoassay with sequential chemiluminescent detection[J]. *Anal Chem*, 2008, 80(14):5654-5659.

- [25] Ikeda R, Ichiyama K, Tabuchi, N, et al. Determination of folates by HPLC-chemiluminescence using a ruthenium(II)-cerium(IV) system, and its application to pharmaceutical preparations and supplements[J]. *Luminescence*, 2014,29(7):824-830.

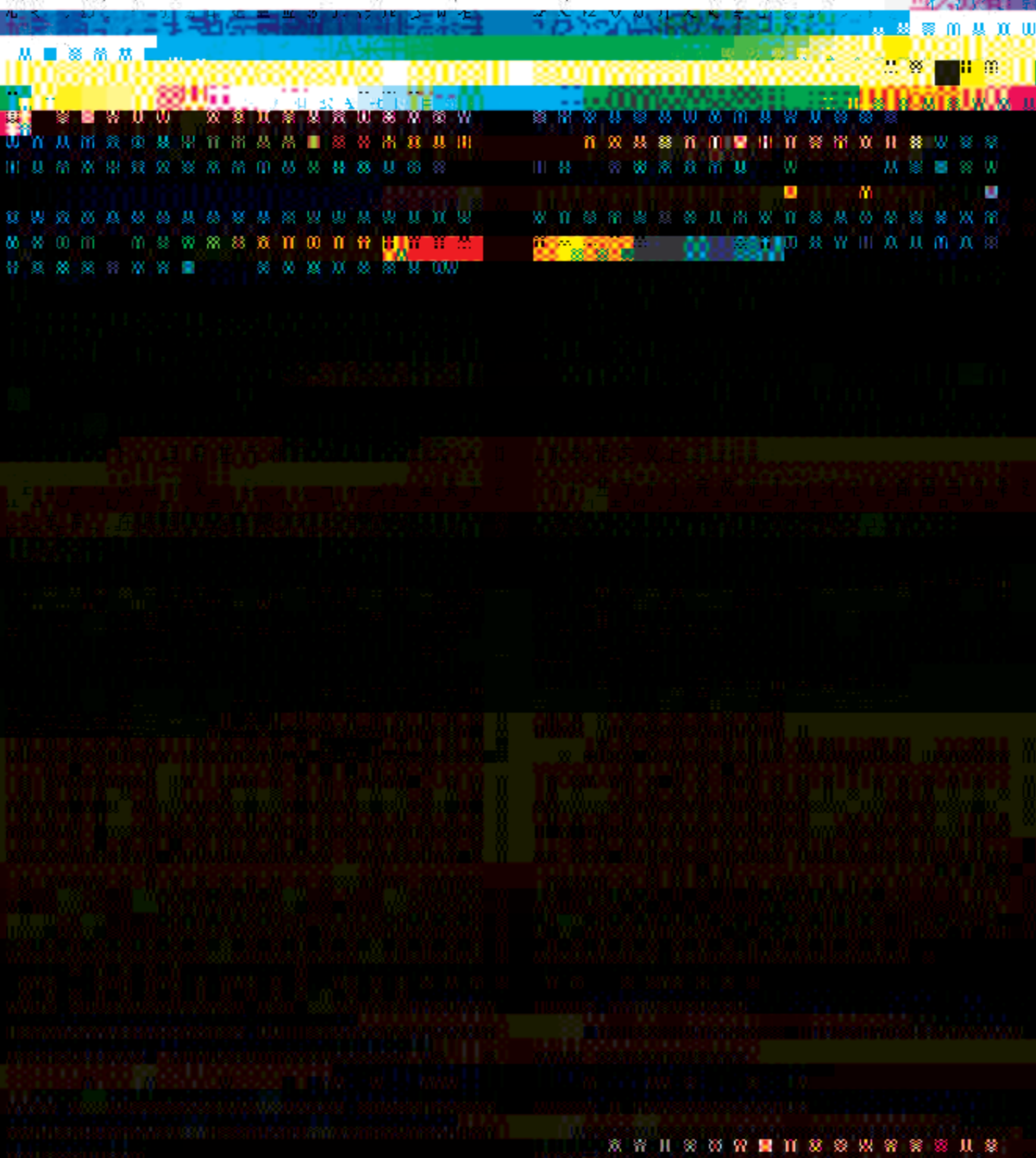


NTM)感染,也无法区分是否由接种卡介苗引起^[1,2]。因此,近年来在欧美发达国家,TST已逐渐被 γ -干扰素释放试验(interferon gamma release assay, IGRA)所取代。IGRA的方法是利用结核分枝杆菌特异性抗原与受试者的新鲜外周全血中的T细胞共同孵育刺激培养,如果受试者受到过结核分枝杆菌感染,那么激活的T细胞会分泌大量的 γ -干

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

2株 γ -干扰素单克隆抗体C6H4和8A11、 γ -干扰素抗原、特异性刺激抗原E1C0和阳性刺激抗原PHA均来自厦门大学;磁珠购自Merck公司,吲哚酯原料来自厦门大学。



内将采集的全血分装到“本底对照培养管 N”、“测试培养管 T”、“阳性对照培养管 P”3 个培养管中。每种培养管加入全血 1.0 mL, 分装前需要将采集的全血标本颠倒混匀 3 次以上。培养: 将培养管轻柔颠倒 5 次后迅速放入 37℃温箱培养 (22 ± 2)h, 培养过程中保持试验管直立。离心: 将培养后的全血以 3 000 r/min-5 000 r/min 离心 5 min, 取上清液。

参数拟合试剂剂量反应曲线, 测量值与标定值的相关系数(r)为 0.99997, 表明本试剂具有良好的剂量反应关系(图 1)。



表2 溶血对检测的影响
Table 2 The influence of hemolysis

标本类型	检测结果		
	1#	2#	3#
溶血前	阳性	阳性	阳性
溶血后	不确定	不确定	不确定

标本中T细胞破裂死亡导致。因此,溶血对本试剂检测结果有较大影响,在标本处理时应避免溶血现象的出现。

2.4.2 黄疸

选取3份临床确诊为肺结核和黄疸的标本(编号分别为4#-6#)、3份临床确诊为非结核但有黄疸的标本(编号分别为7#-9#)进行培养,然后检测每份标本的 γ -干扰素含量,从而对检测结果进行判定,结果如表3所示。

表3 黄疸对检测的影响

标本编号	检测结果
4#	阳性
5#	阳性
6#	阳性
7#	阳性
8#	阳性
9#	阳性

2.4.4 类风湿因子

为考察标本中的RF是否会对本试剂的检测结果造成影响,收集3份IFN- γ 阳性RF阳性标本(编号为16#-18#),3份IFN- γ 阴性RF阳性标本(编号为19#-21#)用本试剂进行检测,结果如表5所示。

表5 类风湿因子对检测的影响
Table 5 The influence of RF

标本编号	16#	17#	18#	19#	20#	21#
结果判定	阳性	阳性	阳性	阴性	阴性	阴性

由表5可知,3份肺结核标本检测结果为阳性,3份非结核标本检测为阴性,从而表明类风湿因子不会对试剂结果造成影响。

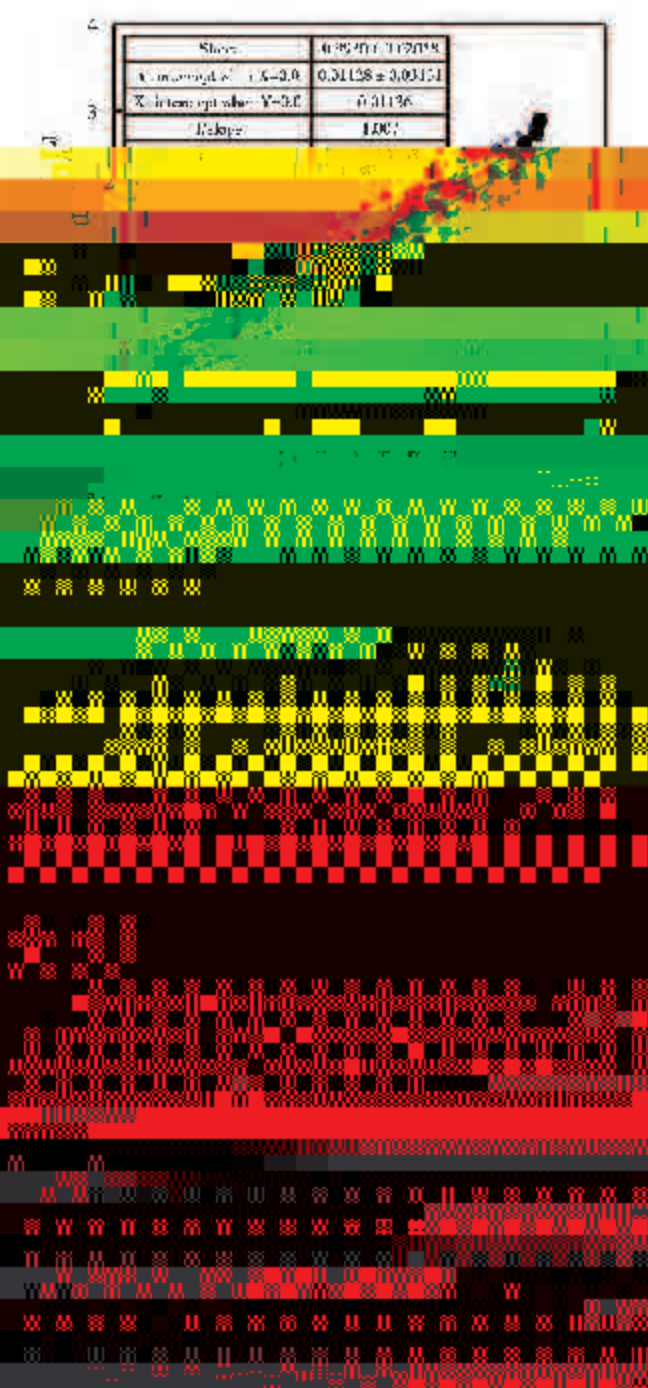
2.5 与同类产品的比较

用本试剂与北京万泰生物药业股份有限公司的结核分枝杆菌相关 γ -干扰素检测试剂盒

(体外诊断试剂)进行比较,结果如表6所示。

标本编号	本试剂结果	万泰试剂结果
1#	阳性	阳性
2#	阳性	阳性
3#	阳性	阳性
4#	阳性	阳性
5#	阳性	阳性
6#	阳性	阳性
7#	阳性	阳性
8#	阳性	阳性
9#	阳性	阳性
10#	阳性	阳性
11#	阳性	阳性
12#	阳性	阳性
13#	阳性	阳性
14#	阳性	阳性
15#	阳性	阳性
16#	阳性	阳性
17#	阳性	阳性
18#	阳性	阳性
19#	阴性	阴性
20#	阴性	阴性
21#	阴性	阴性

Table 6 Coincidence rate with the ELISA kit



量相对于本底对照培养管 N 的 γ -干扰素释放量升高 14 pg/mL, 而 N 管的检测值一般是趋近于检测下限的。该 ELISA 试剂的剂量反应曲线范围为

中对照管

要足够的细胞, 在低的感染剂量的情况下, 细胞内

W

W

W

W

W

W

W

W

W

W

W

W

W

W

W

W

W

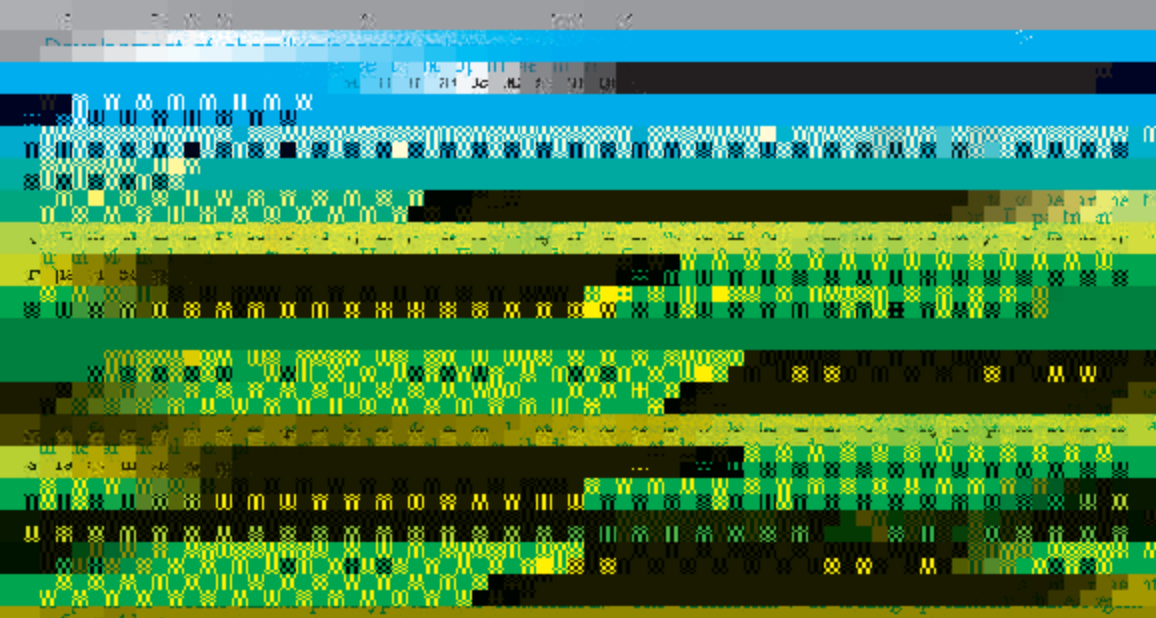
W

W

硫酸脱氢表雄酮化学发光微粒子免疫法定量测定试剂的研制

黄明聪¹ 张晓珊² 林光华² 翁祖星¹ 孙旭东¹ 葛胜祥³ 张军^{3*}

【摘要】目的 研制硫酸脱氢表雄酮化学发光免疫定量检测试剂。方法 利用硫酸脱氢表雄酮人工完全抗原免疫小鼠,通过杂交瘤技术制备特异性抗硫酸脱氢表雄酮单克隆抗体,采用竞争抑制法建立硫酸脱氢表雄酮化学发光免疫定量检测试剂。结果 筛选获得了27株稳定分泌抗硫酸脱氢表雄酮的单克隆抗体细胞株,建立了化学发光微粒子免疫法定量测定硫酸脱氢表雄酮的试剂盒雏形,与雅培公司生产的硫酸脱氢表雄酮化学发光微粒子免疫法定量测定试剂在检测灵敏度、特异性、稳定性、重复性等方面进行了比较,结果显示,自主研发的硫酸脱氢表雄酮化学发光微粒子免疫法定量测定试剂与雅培公司生产的硫酸脱氢表雄酮化学发光微粒子免疫法定量测定试剂在检测灵敏度、特异性、稳定性、重复性等方面均无显著差异。



non-Abooh company was over 0.99. Conclusion Development of domestic chemiluminescent microparticle immunoassay for quantitative determination of dehydroepiandrosterone sulfate reagent was laid foundation by this study.

[KEY WORDS] Dehydroepiandrosterone sulfate; Chemiluminescent microparticle immunoassay; Quantitative determination kit

基金项目:国家高技术研究发展计划(863计划)(2011AA02A101)

作者单位:1. 厦门万泰凯瑞生物技术有限公司,福建,厦门 361022

2. 福建医科大学附属协和医院检验科,福建,福州 350001

3. 厦门大学国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心,福建,厦门 361102

*通讯作者:张军, E-mail:zhangj@xmu.edu.cn

注:黄明聪和张晓珊为并列第一作者

硫酸脱氢表雄酮 (dehydroepiandrosterone sulfate, DHEA-S)

脱氢表雄酮 (dehydroepiandrosterone, DHEA)

是类固醇类



每孔加入 180 μL 封闭液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中放置 2 h。弃去封闭液, 将板拍干。加样: 加入梯度稀释的血清或细胞上清和梯度稀释的 DHEAs 各 50 μL , 混匀后于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中孵育 30 min, PBST 清洗 5 遍。加酶标二抗: 每孔加入酶标二抗 100 μL , 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中孵育 30 min, PBST 清洗 5 遍。显色: 将混合后加 100 μL 于孔中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中孵育 15 min。终止并读值: 2 mol/L 硫酸终止反应, 用酶标仪读值。

1.2.7 管式比色法检测 DHEAs

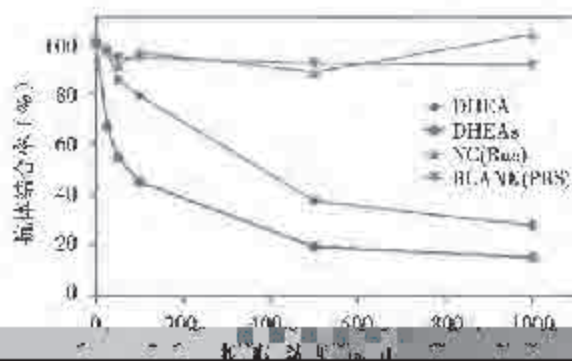


图 1 DHEAs 被 DHEA 和 NC(Buc) 抑制

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

Figure 1 Inhibition of DHEAs by DHEA and NC(Buc)

图 2 血清中 DHEAs 的测定

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

Figure 2 Determination of DHEAs in serum

肌红蛋白(myoglobin, MYO)是由一条肽链和一个血红素辅基组成的结合蛋白,大量存在于横纹肌(骨骼肌以及心肌)细胞中的血红素蛋白。心肌或者骨骼肌受损时,肌红蛋白会因为细胞膜的破裂而被释放到血管系统,可以在血液中检测到^[1]。

在急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)患者发病后1 h - 3 h血内肌红蛋白浓度迅速升高,12 h时几乎所有AMI患者的肌红蛋白都升高^[2]。因此胸痛发作6 h - 12 h内肌红蛋白不升高是排除AMI良好的指标(即阴性指标),同时也是早期检测AMI最快的指标^[3]。由于在AMI后血中肌红蛋白很快从肾脏清除,发病18 h - 30 h内可完全恢复到正常水平,所以肌红蛋白的测定有助于在AMI病程中观察患者有无再梗死或梗死再扩展病症,同时也是溶栓治疗中判断有无再灌注的较敏感而准确的指标^[4-5]。

目前关于MYO的测定主要有免疫比浊法和化学发光法。免疫比浊法灵敏度低、且定量准确度差。化学发光是美国心脏协会推荐的MYO测定方法^[6]。化学发光免疫分析法(chemiluminescent immunoassay, CLIA)将免疫学反应与化学发光进行了偶联,与ELISA、RIA相比较,灵敏度、抗干扰能力及特异性要远远高于前两者,不会对环境和操作人员产生任何影响,且操作简便、反应速度快、检测量大,是急性心肌梗死早期诊断和鉴别诊断的首选方法。

制备。牛血清白蛋白(BSA, Protease Free)购自于美国MP BIO公司,酪蛋白(casein)购自美国Sigma公司,心肌标志物复合质控品(645)购自于美国Bio-Rad公司,化学发光底物(AMPPD)购自于美国Lumigen公司。

1.3 仪器

科华卓越C1800全自动化学发光免疫分析仪由上海科华实验系统有限公司研制。相关性测试的参比试剂选择美国Beckman Coulter Access2微粒子化学发光免疫分析仪及配套的MYO试剂盒,仪器及试剂均由上海同济医院提供。

1.4 双抗体夹心法CLIA方法的建立

1.4.1 捕获抗体工作液的制备

抗MYO小鼠单抗与经过预活化的磁微粒按6 μg 抗体/1 mg 磁珠的比例进行交联,交联了抗体的磁微粒后通过封闭、洗涤、热处理及超声后,以0.4 mg/mL的浓度悬浮于50 mmol/L TBS, pH = 8.0 (5 g/L BSA, 0.2 g/L TRU Block, 0.1 g/L 正常纯化鼠IgG, 1 g/L Procline300)溶液中,2 ℃ - 8 ℃保存备用。

1.4.2 标记抗体工作液的制备

采用过碘酸钠法^[7],将抗MYO小鼠单抗与碱性磷酸酶以1/1的质量比进行标记,标记完成的碱性磷酸酶结合物以4 μg/mL的浓度溶解于50 mmol/L TBS, pH = 8.0 (5 g/L BSA, 0.2 g/L TRU Block, 0.1 g/L 正常纯化鼠IgG, 1 g/L Procline300)溶液中,2 ℃ - 8 ℃保存备用。

(MYO1、MYO2)由上海科华生物工程股份有限公司制备,碱性磷酸酶购自于美国MP BIO公司,碱性正磷酸盐G由上海科华生物工程股份有限公司制备,Tru block由美国Bio-Rad公司,碧云天化学试剂由碧云天生物工程股份有限公司

提供。试剂配制:
1.4.4 捕获液测定模式
本试剂盒采用一步法模式进行检测,将一微孔反应杯中分别加入20 μL样本、300 μL捕获抗体和10 μL标记抗体,反应30 min,洗涤,加入

化学发光底物:AMPPD[3-(2'-螺旋金刚烷)-4-甲氧基-4-(3'-磷酸氧基)苯-1,2-二氧杂环丁烷],仪器自动对酶促反应产生的相

ISO17511^[2],如果要完成试剂盒的溯源以及校准品的定值,需要选择合适的参考测定程序,通过测定

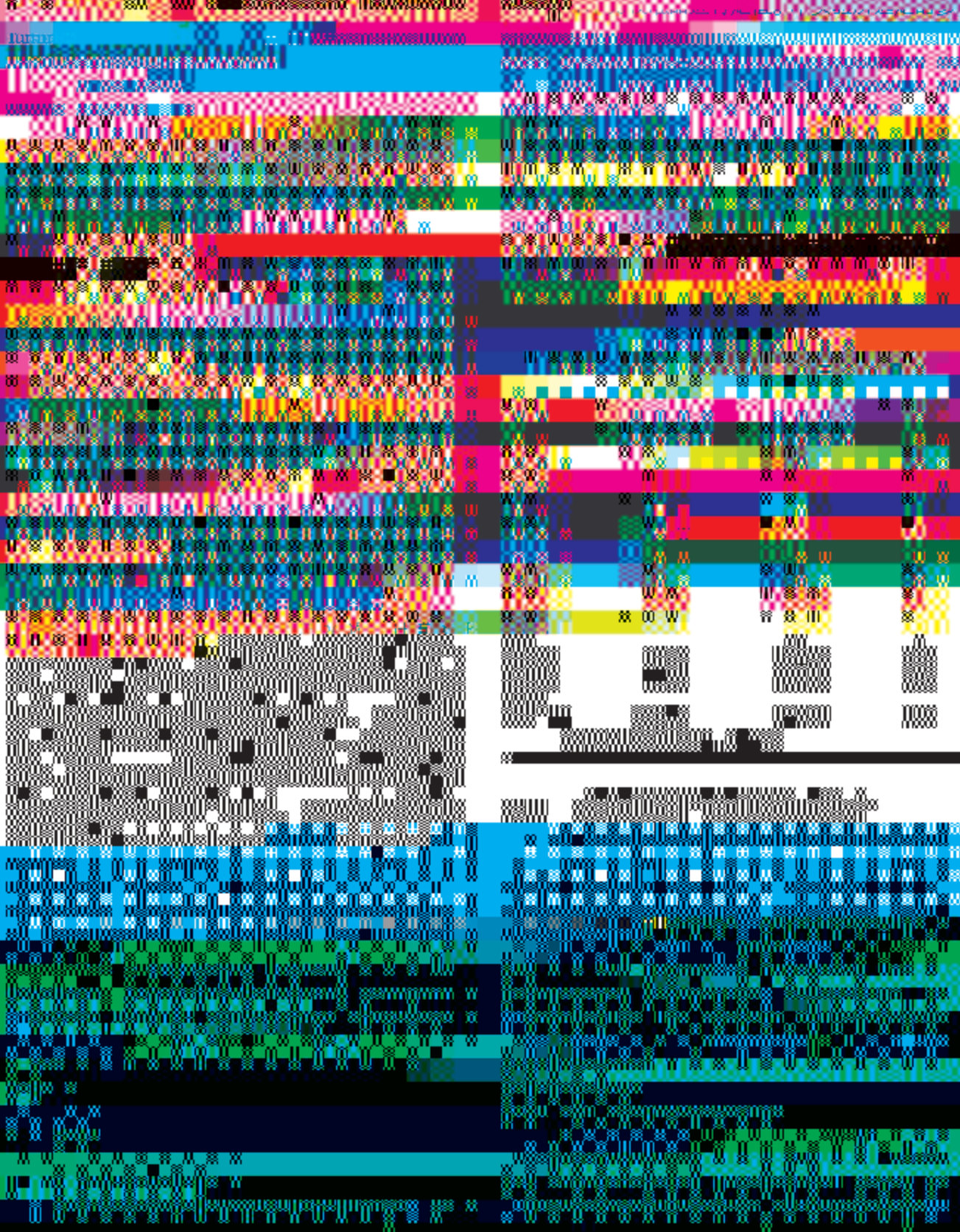


表2 封闭蛋白对于测试结果的影响

Table 2 Effect of the blocking proteins for assay

封闭蛋白	BSA(浓度 5 g/L)	酪蛋白(浓度 5 g/L)
C1 发光值(RLU)	323	1547
C2 发光值(RLU)	67812	42123
C2/C1 值(信噪比)	32.39	27.23
质控 L1(49.5 ng/mL)	57.62	31.24
质控 L2(98.7 ng/mL)	110.41	131.51
质控 L3(229.6 ng/mL)	247.93	298.17

C1 为校准品第一点, C2 为校准品第二点

mL、4 μg/mL、6 μg/mL 进行正交试验, 每组实验所使用的固相捕获抗体都采用 3 种抗体-磁珠交联比例, 交联比例为 3 μg 抗体/1 mg 磁珠、6 μg 抗体/1 mg 磁珠及 9 μg 抗体/1 mg 磁珠。通过汇总 27 组数据的校准曲线的线性、本底发光值、信噪比以及质控的测试结果确定捕获抗体工作液浓度为 0.4 mg/mL 以及标记抗体工作液浓度为 4 μg/mL 作为最佳的反应浓度, 该组实验的 3 种不同捕获抗体交联比例实验结果如表 3 和图 1 所示。当包被浓度较低时 (3 μg 抗体/1 mg 磁微粒), 反应整体信号值偏低灵敏度较差, 并且整体线性较差, 推测可能是抗体浓度过低导致没有足够的抗体参与反应。随着包被浓度的升高, 测试的发光值上升灵敏度变好, 但是当包被浓度为

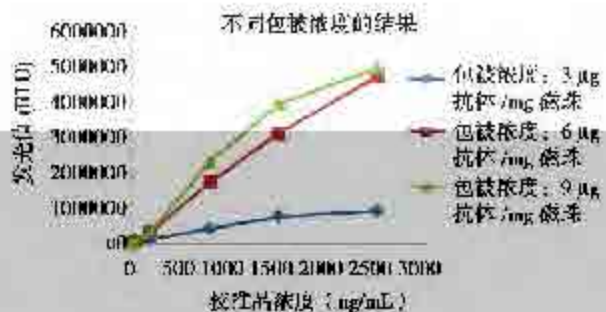


图1 MYO 不同抗体包被浓度对于测试的影响

Figure1 Effects of different antibody coating concentrations for MYO assay

2.2 MYO 化学发光免疫分析法定量检测试剂盒的性能评估

2.2.1 空白限

将零浓度的校准品进行连续 25 次的重复测定后, 通过 M、SD 的计算得出 MYO 定量测定试剂盒的最低检出限为 0.10 ng/mL。

2.2.2 线性

本研究建立的线性范围拟设定为 (1.0-2 500.0) ng/mL, 为了对该线性范围进行验证本实验所使用的线性高浓度样本浓度约为 2 500 ng/mL, 线性低浓度样本的浓度约为 0.8 ng/mL。两个样本的具

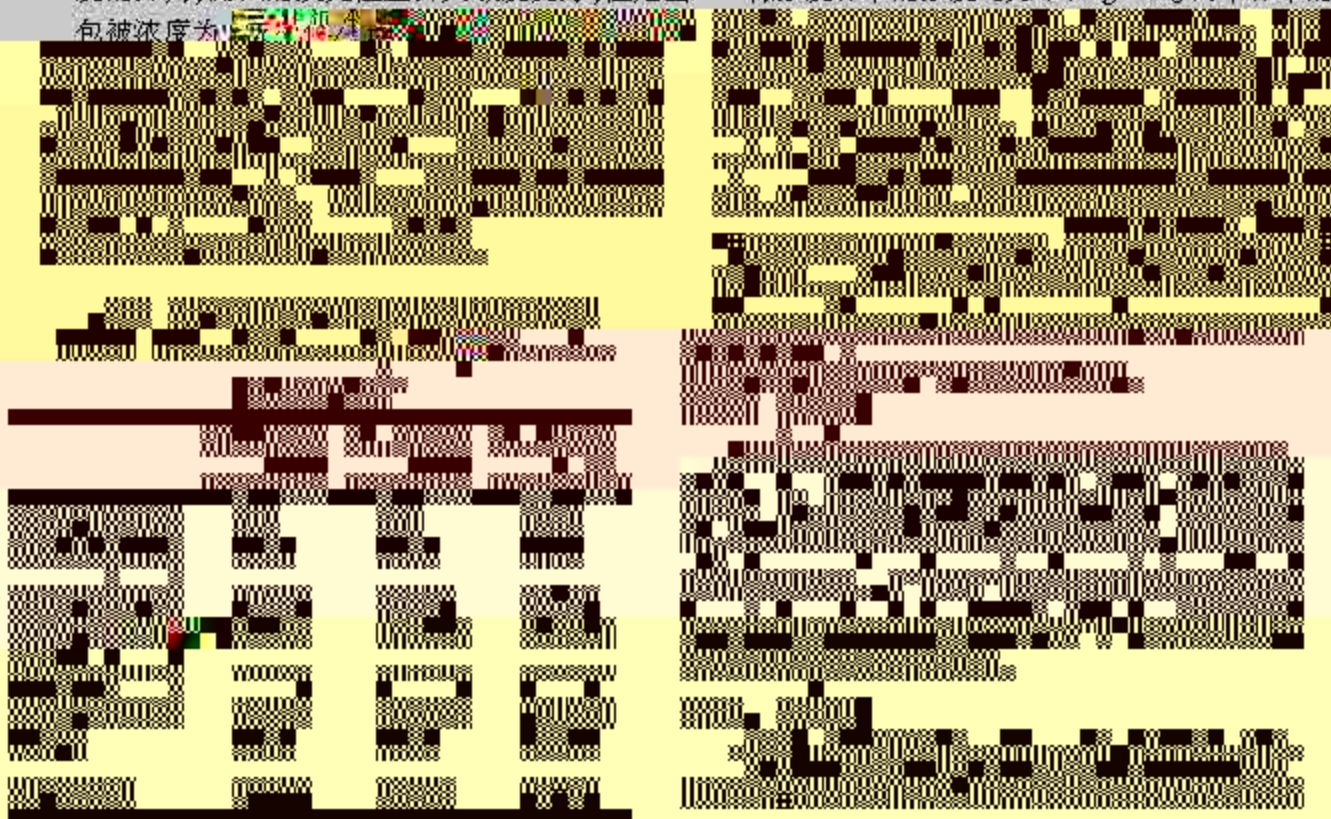


表4 MYO线性扩增结果

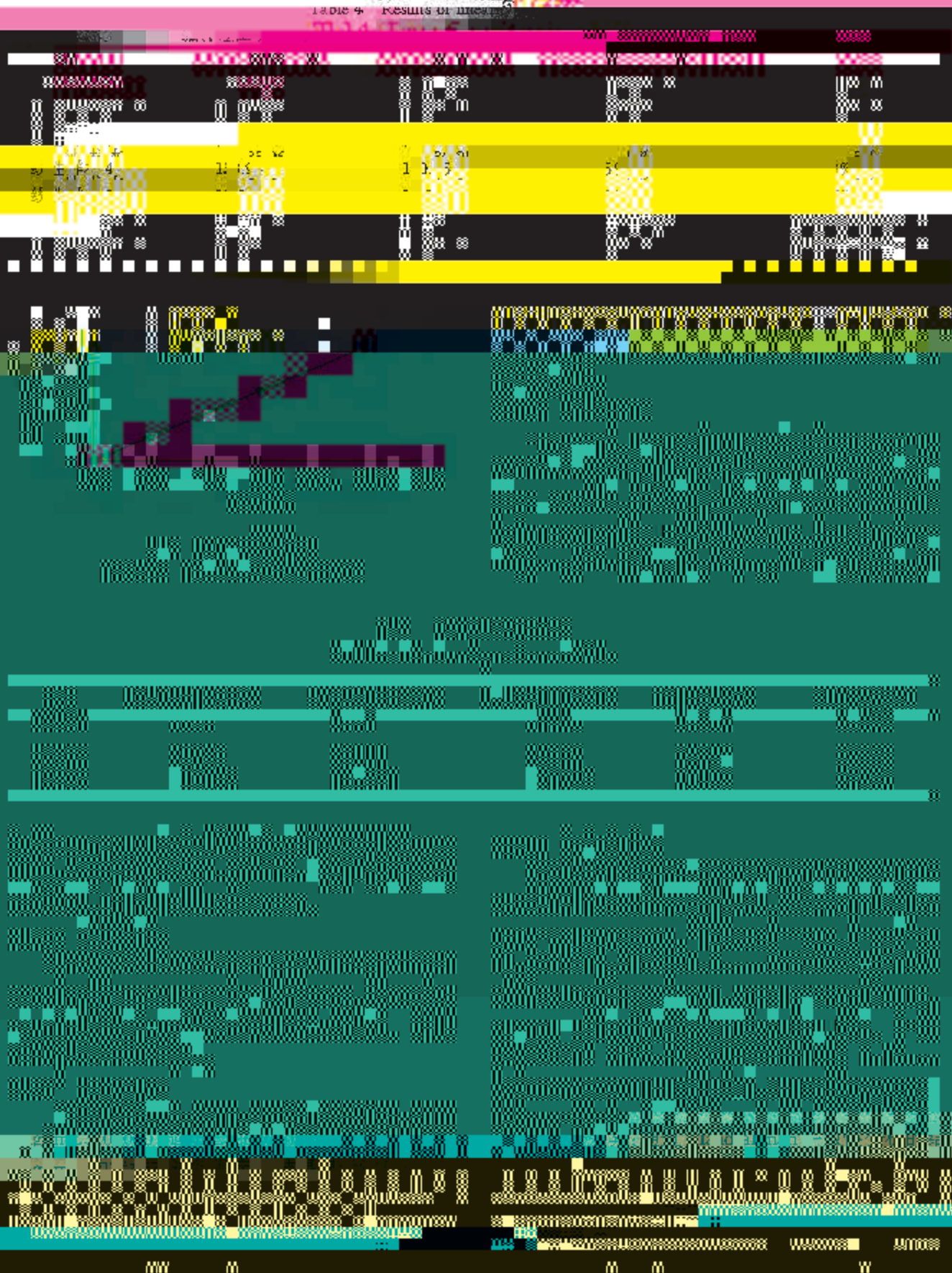


表6 MYO干扰性结果

Table 6 Results of interference

低浓度样本试剂抗干扰实验结果				高浓度样本试剂抗干扰实验结果			
干扰物质	添加浓度	MYO测定浓度 (ng/mL)	测试偏差 (%)	干扰物质	添加浓度	MYO测定浓度 (ng/mL)	测试偏差 (%)
甘油三酯(mg/dL)	0	50.74	N/A	甘油三酯(mg/dL)	0	815.7	N/A
	500	48.25	4.9%		500	831.3	1.9%
	1000	53.49	5.4%		1000	792.5	2.8%
	3000	52.63	1.6%		3000	825.1	1.2%
血红蛋白(mg/dL)	0	51.82	N/A	血红蛋白(mg/dL)	0	801.6	N/A
	250	53.47	3.2%		250	824.3	2.8%
	750	55.21	6.5%		750	854.9	4.2%
	1000	60.83	17.4%		1000	894.3	11.6%
胆红素(mg/dL)	0	51.19	N/A	胆红素(mg/dL)	0	794.5	N/A
	15	48.13	6.0%		150	821.4	3.4%
	30	47.61	7.0%		300	768.6	3.3%
	45	53.82	5.1%		450	782.5	1.5%
RF(IU/mL)	0	52.88	N/A	RF(IU/mL)	0	922.5	N/A
	1000	52.88	0%		1000	982.5	20.7%

表7 试剂盒灵敏度实验结果

试剂盒	灵敏度 (%)	特异性 (%)
试剂盒A	95.2	98.7
试剂盒B	92.8	97.5
试剂盒C	96.5	99.1
试剂盒D	94.1	96.8
试剂盒E	97.3	99.5
试剂盒F	93.6	98.2
试剂盒G	95.8	97.9
试剂盒H	94.9	98.4
试剂盒I	96.1	99.3
试剂盒J	93.4	97.6
试剂盒K	95.7	98.9
试剂盒L	94.3	97.8
试剂盒M	96.4	99.2
试剂盒N	93.8	97.7
试剂盒O	95.5	98.6
试剂盒P	94.6	97.9
试剂盒Q	96.2	99.4
试剂盒R	93.5	97.5
试剂盒S	95.9	98.8
试剂盒T	94.7	97.8
试剂盒U	96.3	99.3
试剂盒V	93.7	97.6
试剂盒W	95.6	98.7
试剂盒X	94.5	97.7
试剂盒Y	96.0	99.1
试剂盒Z	93.9	97.8

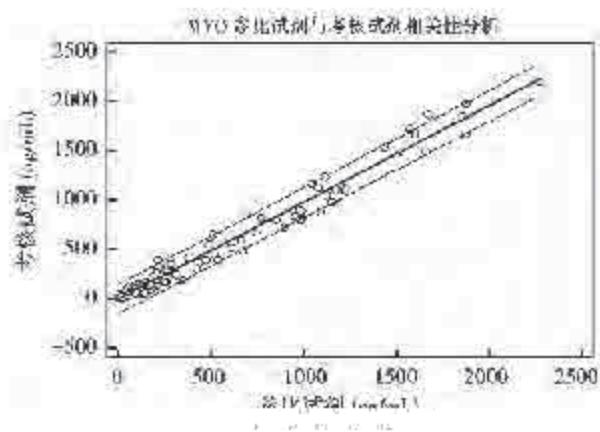


图3 MYD定量检测结果与参考检测结果相关性

Figure 3 Correlation of MYD quantitative test results and reference test results

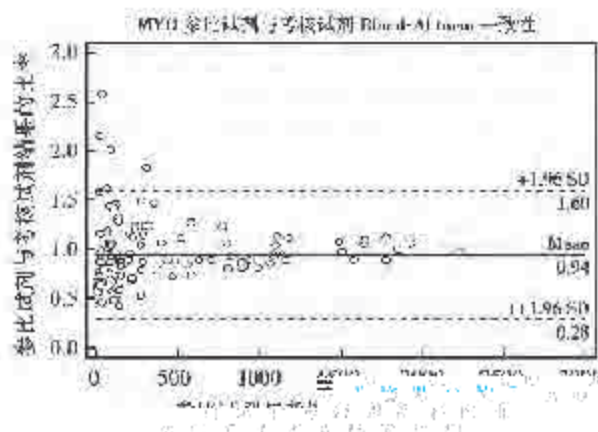


图4 MYD一致性检测结果

Figure 4 Consistency of MYD quantitative test results and reference test results

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

本中心检测室为临床一线科室，日常工作量大，

区为临床一线科室，日常工作量大，

·论著·

【陆自丰产具测产速划合化学业】

【摘要】

【关键词】

【正文】

【参考文献】

【正文】

【正文】

can be applied to the clinical diagnosis of diabetes mellitus.

糖尿病 (diabetes)



Figure 1. Heatmap of gene expression data for diabetes. The heatmap is organized into a grid of colored blocks (red, blue, green, yellow) representing different gene clusters. To the left of the heatmap is a dendrogram showing hierarchical clustering of genes. Below the heatmap, there are several rows of text labels for gene clusters, including 'Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase', 'Hexokinase', and 'Glucose-6-phosphate dehydrogenase'. The labels are color-coded to match the corresponding rows in the heatmap.

王... 2015年9月 第7卷 第5期 J Mol Diagn Ther, September 2015, Vol. 7 No. 5 : 315

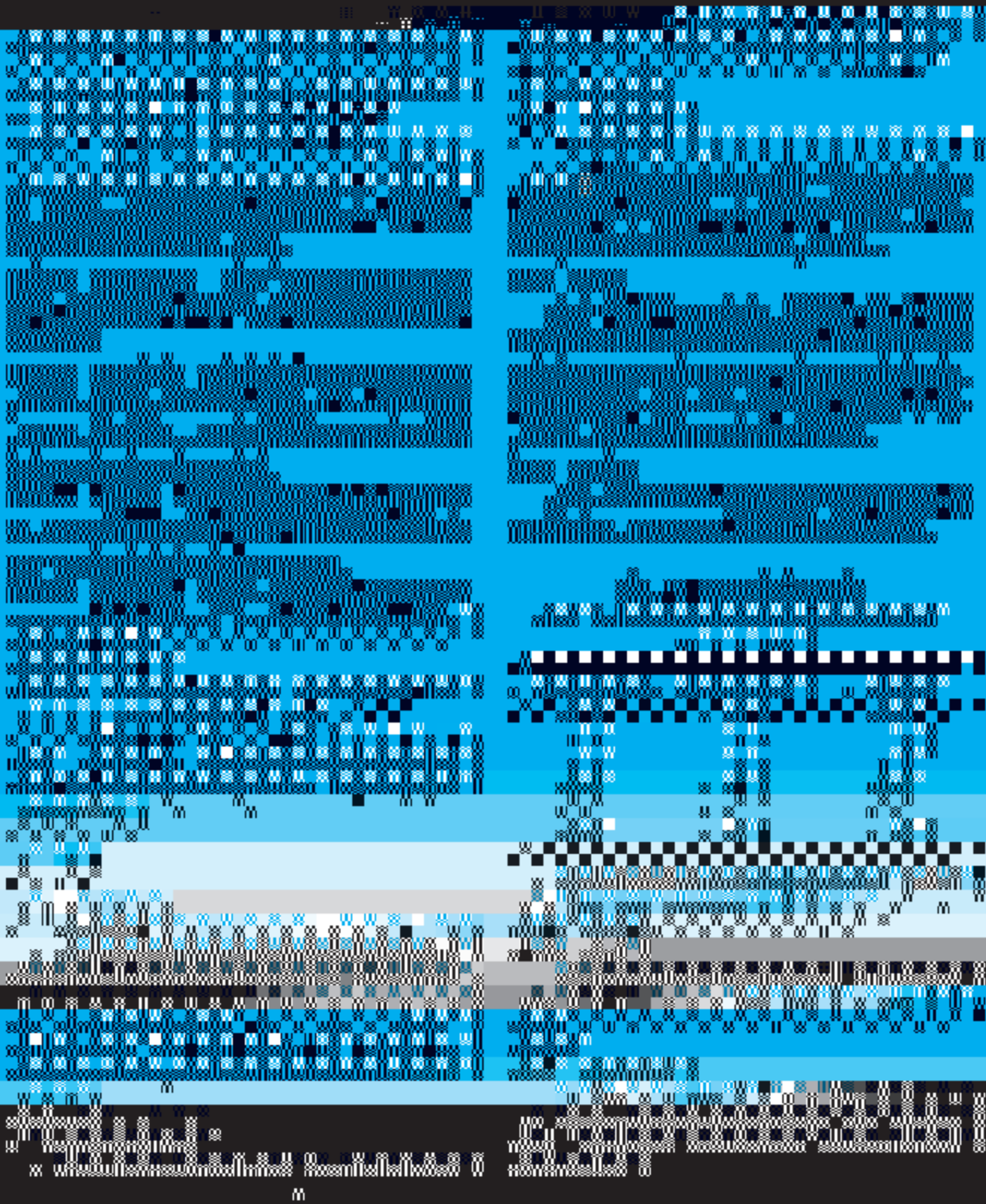


Figure 1: [Illegible text due to image distortion]

表2 精密性结果

Table 2 Results of precision

样本	测试数量	平均值	分析间精密性		日内精密性		日间精密性		总精密性	
			SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
L1	80	4.96	0.119	2.4%	0.088	1.8%	0.012	0.2%	0.148	3.0%
L2	80	29.88	0.478	1.6%	0.215	0.7%	0.192	0.6%	0.559	1.8%
L3	80	148.6	2.824	1.9%	1.095	0.7%	0.276	0.2%	3.042	2.1%

表3 分析特异性

Table 3 Results of analytical specificity

干扰性物质	浓度	交叉反应率
胰岛素原	100 ng/mL	0.00%
C肽	1000 ng/mL	0.00%
胰岛素样生长因子 I(IGF-1)	1000 ng/mL	0.00%
人生长激素	1000 ng/mL	0.00%

2.3.6 抗干扰性

在已知胰岛素浓度的血清中添加一定浓度的胆红素、血红蛋白、甘油三酯、维生素D₃对测定

和锐、诺和平几乎无明显干扰。而对于来得时、优泌乐来说,1 000 mIU/L的浓度下几乎无明显干扰。由于这4种药物与胰岛素结构近似,所以基本很难确保均无交叉反应。目前市场上的主流试剂对这4种药物均有着不同程度的干扰^[9]。

2.3.8 37℃热加速稳定性

试剂置于37℃ 6 d后,测定样本和质控品的结果无明显变化,相应的性能均能达到试剂盒要求。

2.4 样本比对

测定224例血清样本,与Roche电化学发光系统测定胰岛素结果对比。



表 5 药物干扰
Table 5 Results of drug interference

干扰物质	添加干扰物的浓度	测定结果 (μIU/mL)	交叉反应率%
诺和锐 (Aspart)	1 000 mIU/L	91.22	9.12%
	300 mIU/L	9.95	8.91%
	100 mIU/L	0.00	0.00%
诺和平 (Detemir)	30 mIU/L	0.00	0.00%
	1 000 mIU/L	124.2	12.42%
	300 mIU/L	26.87	8.96%
未得时 (Glargine)	100 mIU/L	1.34	1.34%
	30 mIU/L	0.00	0.00%
	1 000 mIU/L	0.00	0.00%
优泌乐 (Lispro)	300 mIU/L	0.00	0.00%
	100 mIU/L	0.00	0.00%
	30 mIU/L	0.00	0.00%

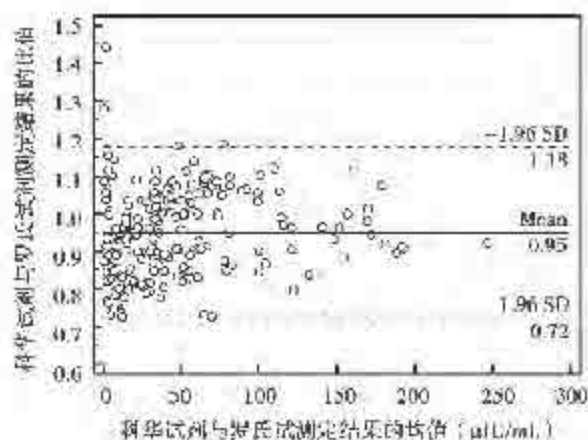


图 1 两种试剂测定结果 Bland-Altman 一致性分析图
Figure 1 Bland-Altman plot with two assays

试剂盒,对于上述干扰物质无明显影响,其测定回收率均在 90%-110%之间。

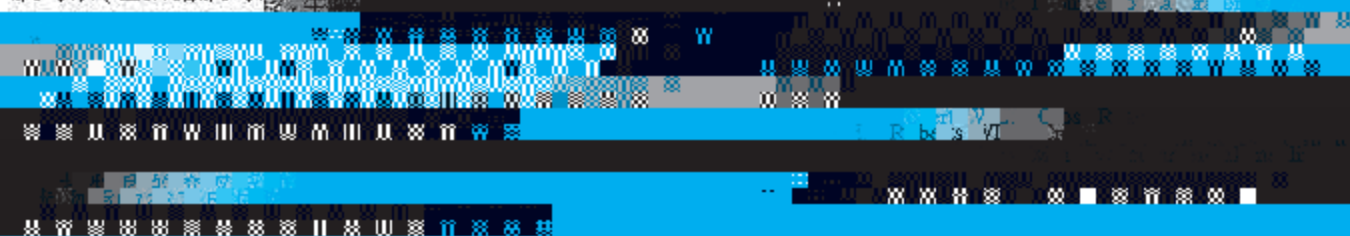
目前市面上最常见的 4 种类胰岛素药物为诺和锐、优泌乐、来得时、诺和平。由于这 4 种药物与胰岛素结构近似,所以基本很难确保均无交叉反应。目前市场上的主流试剂对这 4 种药物均有着不同程度的干扰^[2]。本方法学建立的试剂盒对这 4 种药物进行的药物干扰实验,浓度为 300 mIU/L 时交叉反应分别达到了 3.31%和 8.96%,而 300 mIU/L 浓度以下的诺和锐、诺和平几乎无明显干扰,其性能达到国际先进水平。

本方法建立的胰岛素化学发光免疫分析法试剂盒,操作简便、反应时间短、成本较低。该试剂盒具有灵敏度高、特异性强等优点,达到或接近国际领先水平,并成功搭载全自动化学发光免疫分析仪,进一步提高化学发光法检测的高效性、便捷性。

参考文献

- [1] Spain R. Insulin assays: previously known and new analytical features[J]. Clin Lab, 2003,49:113-121.
- [2] Brange J, Langkjoer L. Insulin structure and stability [J]. Pharm Biotechnol, 1993,5:315-350.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A2 Approved guideline-second edition: evaluation of the linearity of quantitative measurement methods [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP9-A2 Approved guideline-second edition: method comparison and bias estimation using patient sample[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2002.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Approved guideline-second edition: evaluation of precision performance of quantitative measurement methods [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [6] 金丕煊,陈峰. 医学统计方法(第三版)[M]. 上海:复旦大学出版社, 2009,11:25.

胰岛素(包括猪胰岛素)



·论 著·

癌胚抗原定量测定试剂盒(化学发光免疫分析法)的临床性能评价

梁丽萍¹ 李志雄¹ 董志宁¹ 李明² 吴英松^{2*}

【摘要】目的 对自制的癌胚抗原定量测定试剂盒(化学发光法)进行临床性能评价。

方法 选取2014年1月—2014年12月本院收治的恶性肿瘤患者100例,分别用自制的癌胚抗原定量测定试剂盒(化学发光法)和罗氏电化学发光法进行检测,比较两种方法的检测结果。

结果 两种方法的检测结果具有良好的一致性,且自制的癌胚抗原定量测定试剂盒(化学发光法)的检测时间较短,操作简便,易于推广。

结论 自制的癌胚抗原定量测定试剂盒(化学发光法)具有良好的临床性能,可作为临床检测癌胚抗原的常规方法。

关键词 癌胚抗原;定量测定;化学发光法;临床性能评价

中图分类号 R734.1;R737.1;R738.1;R739.1;R739.2;R739.3;R739.4;R739.5;R739.6;R739.7;R739.8;R739.9

文献标志码 A

doi:10.3969/j.issn.1674-4684.2015.05.0318

基金项目 国家自然科学基金(81273000)

作者单位 1. 广东省人民医院检验科,广州 510310; 2. 广东省人民医院检验科,广州 510310

*通信作者:吴英松,Email: wuyingsong@163.com

收稿日期:2015-03-10

修回日期:2015-04-10

网络出版时间:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

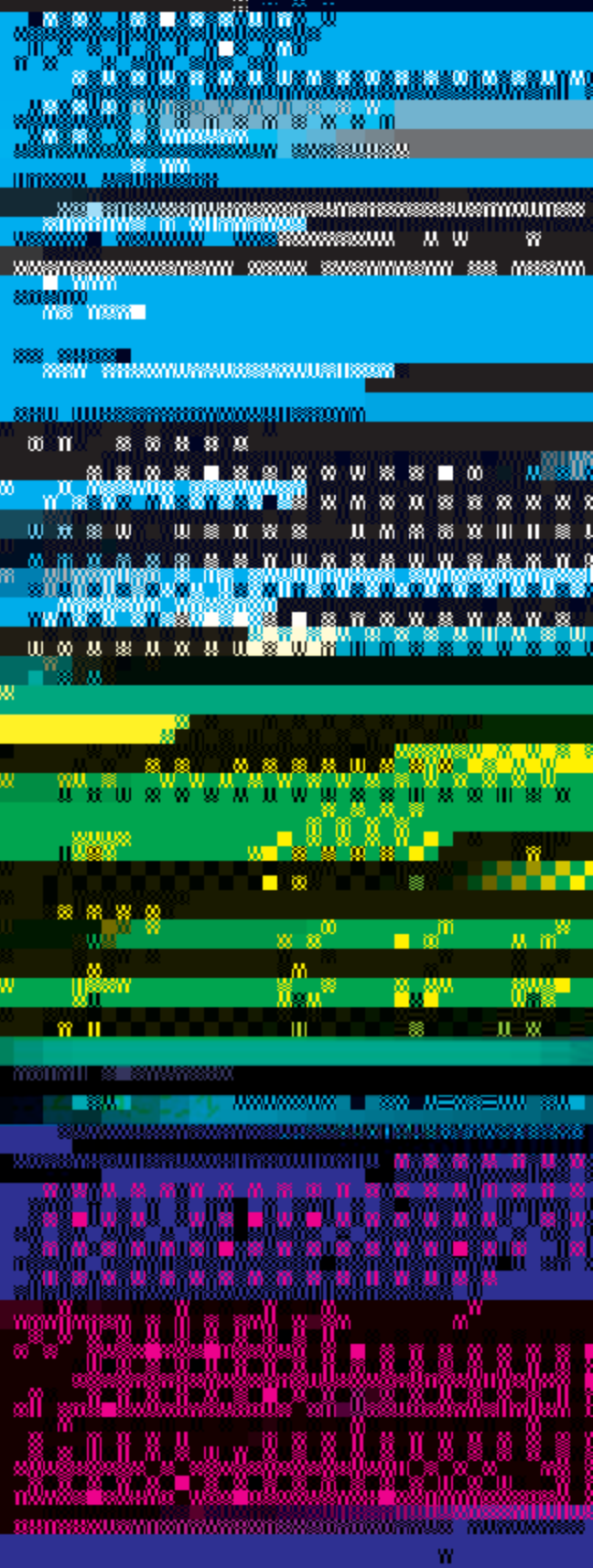
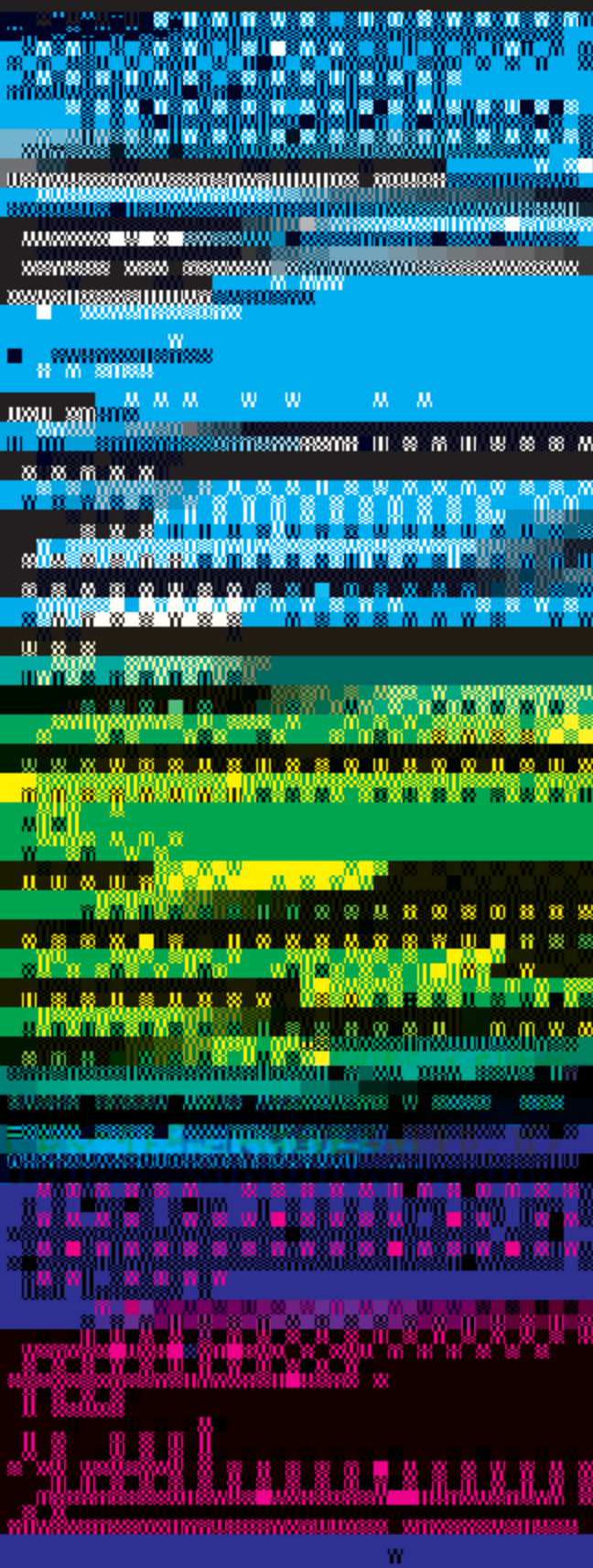
网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

网络出版日期:2015-08-10 10:10:10

网络出版地址: <http://www.cnki.net>

癌、胃癌、胰腺癌、胆管癌等,肺、乳腺及泌尿生殖系统的恶性肿瘤[1]。在临床中,TA常与



W

W

表2 Kappa值的计算结果

Table 2 The calculated results of kappa values

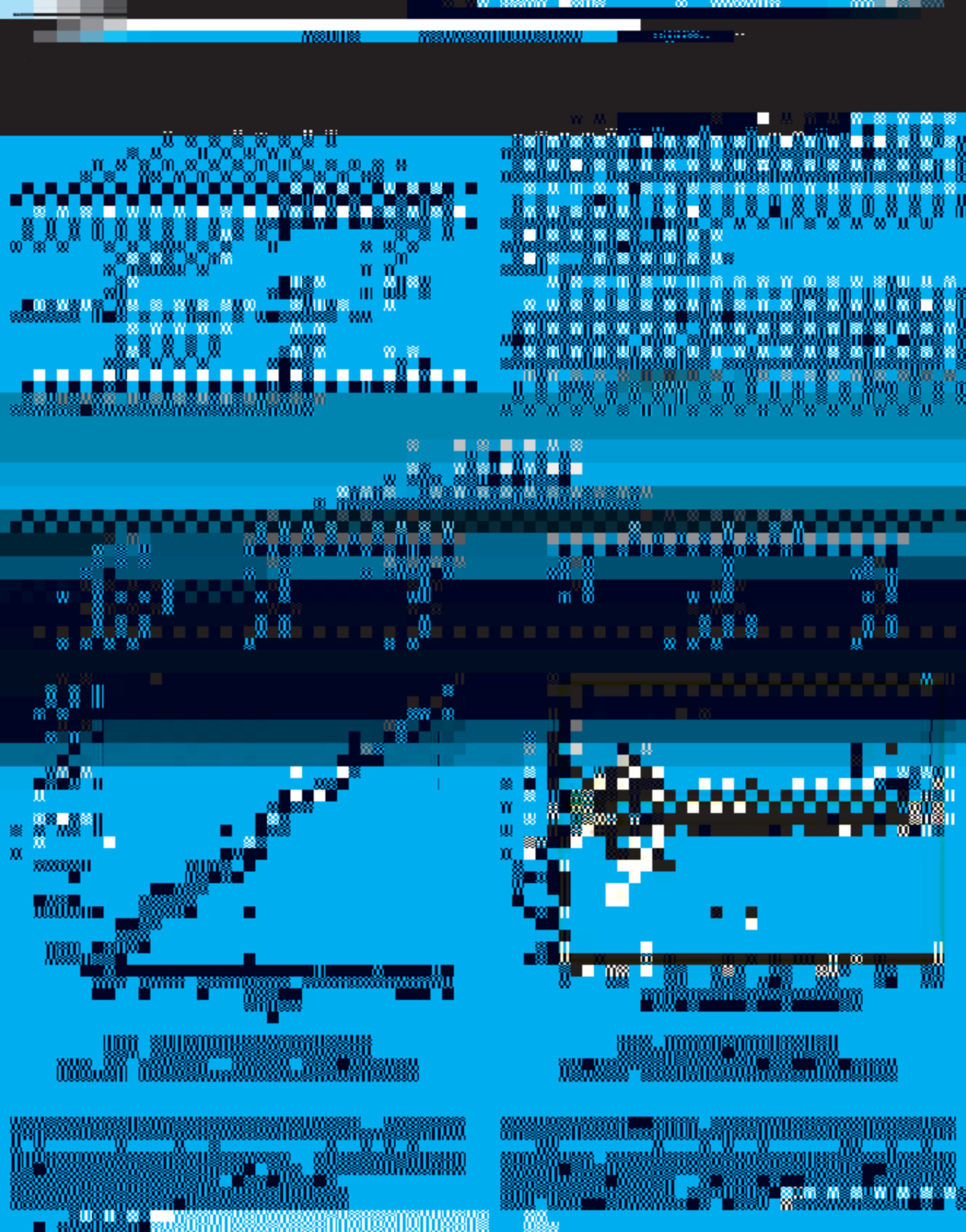


表5 同一病例血清血浆对比表

Table 5 The comparative table of the same patient serum and plasma

待考核试剂	血清		合计
	异常	正常	
血浆			
异常	56	0	56
正常	0	45	45
总数	56	45	101

2.2 血清与血浆样本的测值对比

本次临床试验对101例同一病例的血清和血浆样本用自制试剂盒进行检测,结果101例样本判定结果一致(见表5)。经统计分析,与血清检测结果相比,血浆的检测结果 Kappa 达 1.000 ($P < 0.01$) (见表6),两者测值相关系数 r 值达 0.991 ($P < 0.01$) (见表7),线性回归方程为 $Y = -1.292 + 1.097X$ (见表8),散点图见图3。结果表明待考核试剂盒对血清或血浆的检测结果一致性及相关性较好,待考核试剂

表6 同一病例血清和血浆 Kappa 值统计结果表

Table 6 The statistical results of the same patient serum and plasma

	Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	1.000	.000	10.050	.000
N of Valid Cases	101			

表7 血浆与对应血清测值相关性

Table 7 The correlation analysis of the same patient serum and plasma

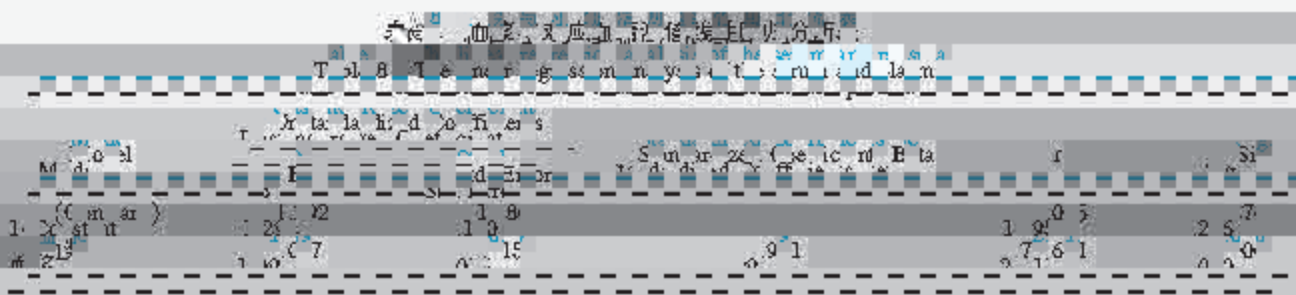
	Pearson Correlation	血清	血浆
血清	Sig. (2-tailed)	1	.991(**)
	N	101	.000
血浆	Pearson Correlation	.991(**)	101
	Sig. (2-tailed)	.000	1
	N	101	101

**相关性在 $\alpha = 0.01$ 水平上显著(双侧检测)

盒适用于血清及血浆样本的检测。

2.3 特异性样本试验分析

本次临床试验共纳入了70例特异性样本,分别为甲胎蛋白11例、类风湿因子11例、抗核抗体12例、溶血13例、脂血11例、黄疸12例,均使用自制试剂盒与对照试剂进行检测,两者检测结果均正常,表明待考核试剂盒检测血样时不受甲胎蛋白、类风湿因子、抗核抗体、溶血、脂血、黄疸的干扰。



2.4 试剂盒评价

本试剂盒采用磁珠法检测血清和血浆样本,操作简便,结果准确。在特异性试验中,70例样本检测结果均与对照试剂一致,表明该试剂盒具有良好的特异性。在重复性试验中,同一样本多次检测结果一致,表明该试剂盒具有良好的重复性。在稳定性试验中,同一样本在不同时间、不同操作者检测结果一致,表明该试剂盒具有良好的稳定性。综上所述,该试剂盒适用于血清及血浆样本的检测。

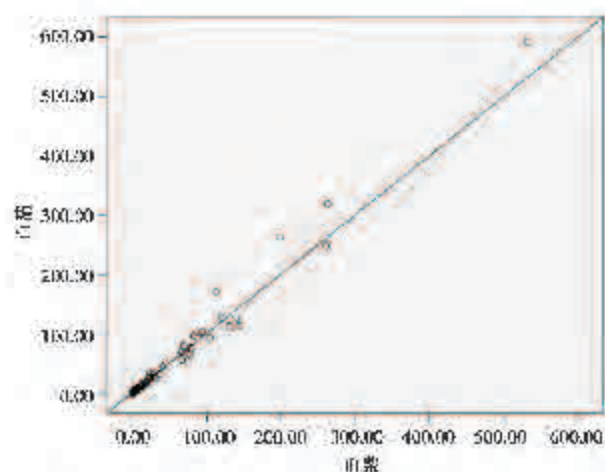


图3 血浆与对应血清测值相关性分析散点图

Figure 3 The scatter plot of correlation analysis of plasma and corresponding serum CEA values

两者测值一致,相关系数 r 值达 0.991 ($P < 0.01$),说明本试剂盒适用于人血清或血浆中 CEA 含量的检测。同时,不受甲胎蛋白、类风湿因子、抗核抗体、溶血、脂血、黄疸的干扰。说明自制的试剂盒与目前临床广为应用的进口试剂在指标检测性能上具有良好的等效性,可替代国外昂贵试剂应用于临床检测和基础医学的研究。

参考文献

- [1] Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques[J]. J Exp Med, 1965,121:439-462.
- [2] 尚书彦,汪毅. 肿瘤标志物检测的临床应用[J]. 中国医学杂志, 2014, 3(3): 7-12.
- [3] 崔丽娟. 血清 CEA、CA153、CA125、AFP 联合检测对乳腺癌的诊断价值[J]. 中国医学杂志, 2014, 3(3): 7-12.

当前,人口老龄化日益加剧,前列腺疾病患者数量不断增长,其中前列腺癌已成为严重危害人类健康的主要疾病之一^[1],如何及时正确诊断该类疾病是目前临床与医药科学研究的热点。前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)是一种含有 237 个氨基酸、侧链含有 7%-8% 碳水化合物且具有糜蛋白酶样活性的丝氨酸蛋白酶,其分子量约为 30 000 道尔顿。在

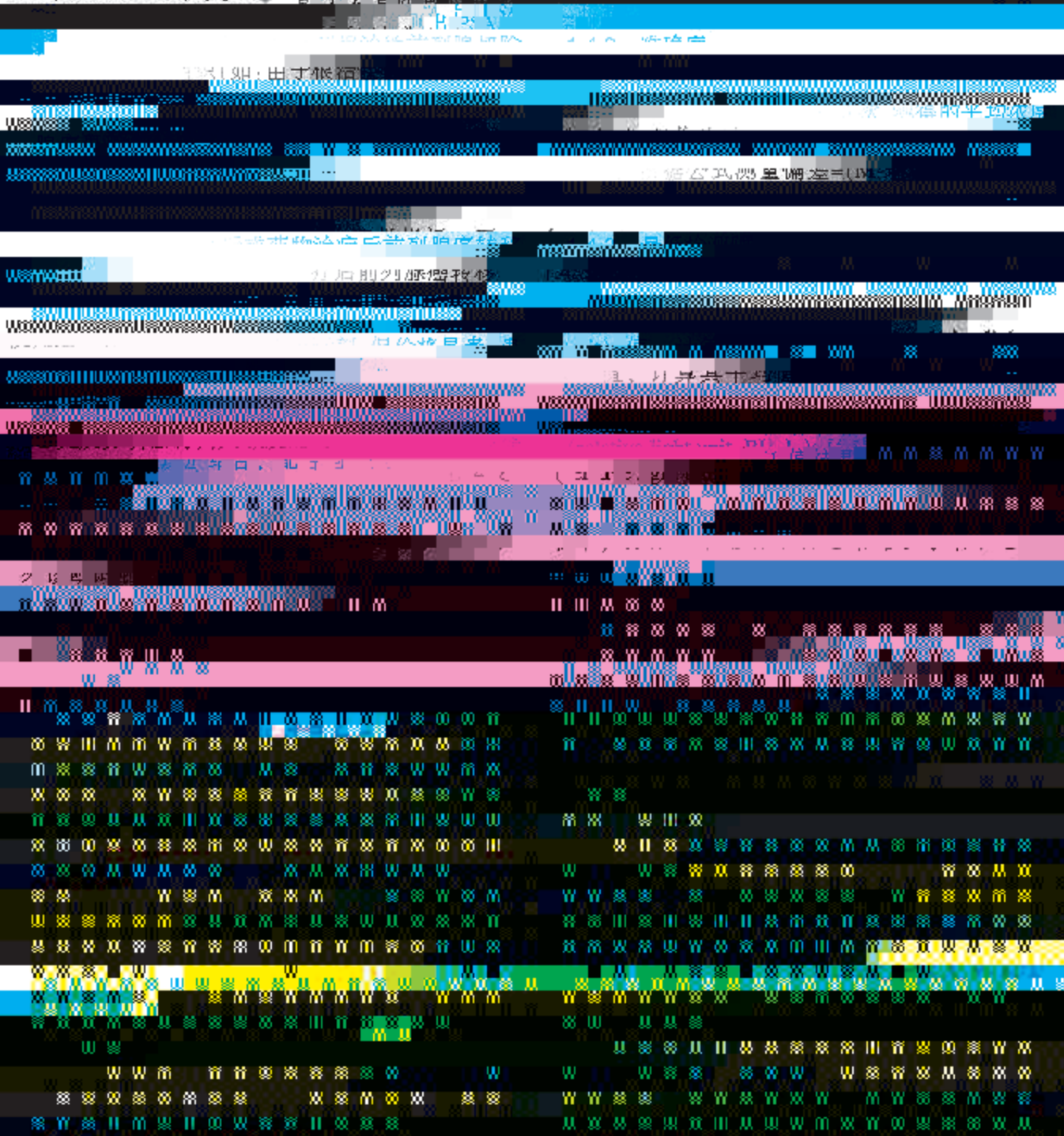
1.3 参考法规及标准

行业标准:《总前列腺特异性抗原(tPSA)定量测定试剂(盒)(化学发光免疫分析法)YY/T 1163-2009》。

1.4 实验方法

1.4.1 试剂盒定标与质量控制

试剂盒在使用前均需要用校准品进行标准曲



100%得出 CV, 3 个批号试剂盒之间的批间 CV 应符合行业标准要求, 不大于 15.0%。

1.4.7 稳定性

在 2℃-8℃条件下, 保存至有效期后 1 个月, 按照 1.4.2-1.4.6 的方法进行检测, 结果需符合相应要求。

1.4.8 配对抗体的等克分子反应性

配制 tPSA 浓度为 10.0 ng/mL 而 iPSA 比例不同的系列样本(见表 1), 分别平行测定各样本的浓度, 取测定结果平均值记为 M, 根据公式: 测量偏差=(M-理论值)/理论值×100%, 其测量结果的相对偏差应符合行业标准要求, 在±15%范围内。

表 1 等克分子反应性样本配制表
Table 1 Sample preparation of equal gram molecular reaction

序号	游离 PSA 浓度 (ng/mL)	PSA-ACT 复合物浓度 (ng/mL)	总 PSA 理论浓度 (ng/mL)	游离 PSA 比例 (FPSA)	总 PSA 测量浓度 (ng/mL)
T1	10.0	0	10.0	100%	C1
T2	3.0	7.0	10.0	30%	C2
T3	2.0	8.0	10.0	20%	C3

表 8 有效期后一个月的试剂盒分析性能评估的结果总结
Table 8 Summarizes the results of performance of the kits

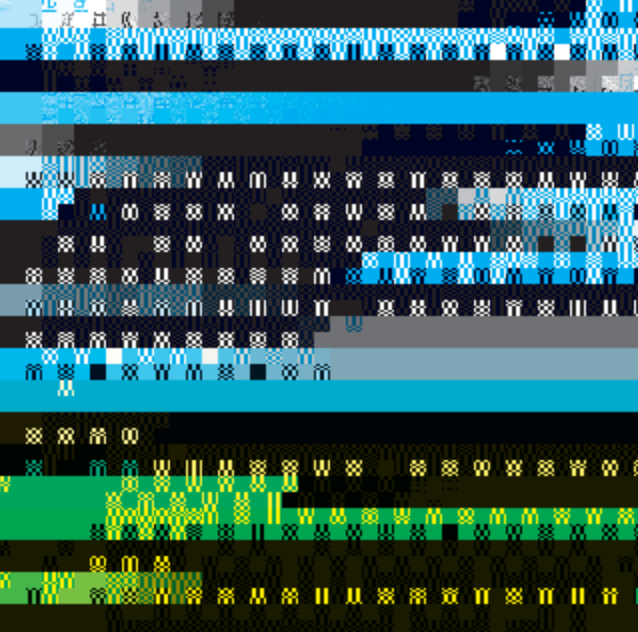
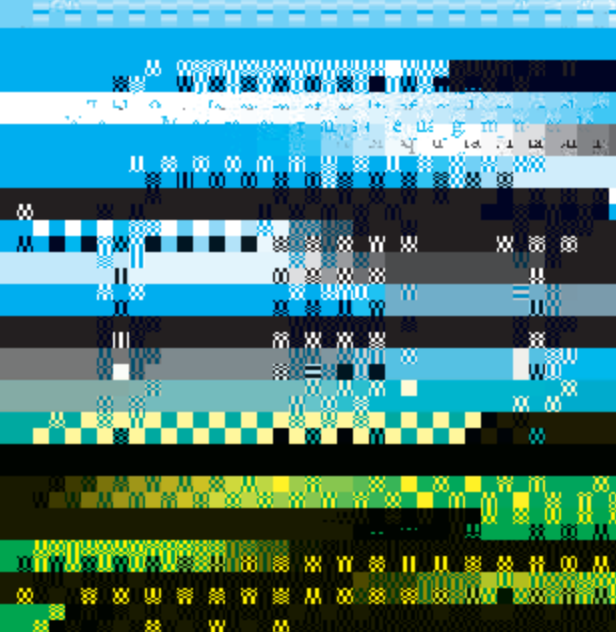
准确度(相对偏差%)	5.45	≤ 10	符合规定
最低检测限(ng/mL)	0.0013	≤ 0.1	符合规定
线性	$r = 0.9999$	≥ 0.9900	符合规定

和推广应用最快的免疫分析方法,也是目前最先进的荧光免疫检测技术,主要具有灵敏度高、特异

E快速、检测范围广、操作简便且自动化程度高等优点^[9],受到广大科研工作者和临床分析工作者的青睐,显示了该技术将在现在及未来的免疫分析检测领域极其重要^[10]。

综上所述,ELISA法及其衍生技术免疫荧光法、酶联免疫吸附法等,各有其特点,各有其适用范围,在临床检验中各有其应用。

参考文献
[1] 王生,王生,王生. 免疫学检验技术. 北京:人民卫生出版社,2012:1-10.



1. 灵敏度: 是指试剂能检测出最低浓度的待测物的能力。灵敏度越高,试剂的检测能力越强。灵敏度通常用最低检测限(LLOD)来表示。LLOD是指试剂能检测出的最低浓度的待测物。LLOD越低,试剂的灵敏度越高。LLOD的计算公式为: LLOD = 3 × SD + 2 × LOD, 其中SD为试剂的批内标准差,LOD为试剂的批间标准差。

2. 特异性: 是指试剂能检测出待测物的能力,而不受其他物质的干扰。特异性越高,试剂的检测能力越强。特异性通常用特异性指数(SI)来表示。SI是指试剂能检测出的待测物的浓度与试剂能检测出的其他物质的浓度的比值。SI越高,试剂的特异性越高。

3. 准确度: 是指试剂检测出的待测物的浓度与待测物的真实浓度的接近程度。准确度越高,试剂的检测能力越强。准确度通常用相对偏差(RD)来表示。RD是指试剂检测出的待测物的浓度与待测物的真实浓度的差值的绝对值与待测物的真实浓度的比值。RD越低,试剂的准确度越高。

4. 线性: 是指试剂检测出的待测物的浓度与待测物的真实浓度的线性关系。线性越好,试剂的检测能力越强。线性通常用相关系数(r)来表示。r是指试剂检测出的待测物的浓度与待测物的真实浓度的相关系数。r越接近1,试剂的线性越好。

5. 稳定性: 是指试剂在有效期内检测出的待测物的浓度与待测物的真实浓度的接近程度。稳定性越高,试剂的检测能力越强。稳定性通常用批内标准差(SD)和批间标准差(SD)来表示。SD和SD越低,试剂的稳定性越高。

免疫分析检测技术具有灵敏度高、特异性强、操作简便、检测范围广等优点,在临床检验中应用广泛。随着科学技术的不断发展,免疫分析检测技术也在不断进步,检测灵敏度不断提高,检测范围不断扩大,操作更加简便,检测速度更快。未来,免疫分析检测技术将在临床检验中发挥越来越重要的作用。

·论 著·

基于磁微粒化学发光法的肝纤四项检测限与功能灵敏度研究

王新灵¹ 李志信^{2*} 关学² 渠海²

〔摘要〕 目的 评价磁微粒化学发光法检测肝纤维化血清学标志物(透明质酸、层粘连蛋白、Ⅲ型前胶原N端肽、Ⅳ型胶原)的空白限、检出限和功能灵敏度。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)文件,利用空白样品及系列梯度稀释样品在AutoLumo A2000全自动化学发光测定系统上进行检测,确定该方法配套试剂的空白限、检出限及功能灵敏度。结果 透明质酸的空白限为7.59 ng/mL,检出限为16.17 ng/mL,20%变异系数(coefficient of variation, CV)功能灵敏度为18.72 ng/mL;层粘连蛋白的空白限为1.38 ng/mL,检出限为3.53 ng/mL,20%CV功能灵敏度为4.16 ng/mL;Ⅲ型前胶原N端肽的空白限为0.89 ng/mL,检出限为2.40 ng/mL,20%CV功能灵敏度为2.48 ng/mL;Ⅳ型胶原的空白限为2.42 ng/mL,检出限为6.49 ng/mL,20%CV功能灵敏度为9.21 ng/mL。结论 AutoLumo A2000全自动化学发光测定仪肝纤四项的空白限、检出限和功能灵敏度的建立为临床诊断和治疗提供了有力支持。

关键词: 磁微粒化学发光法; 肝纤维化; 空白限; 检出限; 功能灵敏度

肝纤维化是多种慢性肝病进展的终末阶段,也是肝硬化发生前的可逆性病理改变。早期发现和诊断肝纤维化对于改善患者预后具有重要意义。目前,肝纤维化的诊断主要依靠影像学检查、组织病理学检查及血清学标志物检测。血清学标志物检测具有无创、简便、快速等优点,已成为临床常用的诊断方法。磁微粒化学发光法(MPCLIA)是一种高灵敏度、高特异性的检测技术,广泛应用于临床检验。本研究旨在评价AutoLumo A2000全自动化学发光测定仪检测肝纤维化血清学标志物(透明质酸、层粘连蛋白、Ⅲ型前胶原N端肽、Ⅳ型胶原)的空白限、检出限和功能灵敏度,为临床诊断和治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 试剂:透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、Ⅲ型前胶原N端肽(Ⅲ-PN)、Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)标准品及试剂盒(均购自上海科华生物工程股份有限公司)。仪器:AutoLumo A2000全自动化学发光测定仪(上海科华生物工程股份有限公司)。

1.2 实验方法 参照CLSI文件,利用空白样品及系列梯度稀释样品在AutoLumo A2000全自动化学发光测定系统上进行检测,确定该方法配套试剂的空白限、检出限及功能灵敏度。

1.2.1 空白限的测定 取空白样品,按照试剂盒说明书方法进行测定,连续测定20次,取其平均值作为空白限。

1.2.2 检出限的测定 取系列梯度稀释样品,按照试剂盒说明书方法进行测定,连续测定20次,取其平均值作为检出限。

1.2.3 功能灵敏度的测定 取系列梯度稀释样品,按照试剂盒说明书方法进行测定,连续测定20次,取其平均值作为功能灵敏度。

1.3 统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行统计学处理,以P < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 透明质酸的检测限与功能灵敏度 透明质酸的空白限为7.59 ng/mL,检出限为16.17 ng/mL,20%CV功能灵敏度为18.72 ng/mL。

2.2 层粘连蛋白的检测限与功能灵敏度 层粘连蛋白的空白限为1.38 ng/mL,检出限为3.53 ng/mL,20%CV功能灵敏度为4.16 ng/mL。

2.3 Ⅲ型前胶原N端肽的检测限与功能灵敏度 Ⅲ型前胶原N端肽的空白限为0.89 ng/mL,检出限为2.40 ng/mL,20%CV功能灵敏度为2.48 ng/mL。

2.4 Ⅳ型胶原的检测限与功能灵敏度 Ⅳ型胶原的空白限为2.42 ng/mL,检出限为6.49 ng/mL,20%CV功能灵敏度为9.21 ng/mL。

3 讨论

肝纤维化是多种慢性肝病进展的终末阶段,也是肝硬化发生前的可逆性病理改变。早期发现和诊断肝纤维化对于改善患者预后具有重要意义。目前,肝纤维化的诊断主要依靠影像学检查、组织病理学检查及血清学标志物检测。血清学标志物检测具有无创、简便、快速等优点,已成为临床常用的诊断方法。磁微粒化学发光法(MPCLIA)是一种高灵敏度、高特异性的检测技术,广泛应用于临床检验。本研究旨在评价AutoLumo A2000全自动化学发光测定仪检测肝纤维化血清学标志物(透明质酸、层粘连蛋白、Ⅲ型前胶原N端肽、Ⅳ型胶原)的空白限、检出限和功能灵敏度,为临床诊断和治疗提供依据。

根据以上公式,得出第95百分位数值为所有空白样本检测结果按从低到高顺序排列的第57.5位数值。表1为各项目空白样品检测结果排序后第51位-第60位的数值。计算各项目第57.5位的结果即为此项目的LoB,见表2。

表1 肝纤四项第51~60位空白值检测结果(ng/mL)

Table 1 The baseline value of 51~60 of four items of liver fibrosis(ng/mL)

项目	第51位	第52位	第53位	第54位	第55位	第56位	第57位	第58位	第59位	第60位
HA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PIVNP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PIVNP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

表4 肝纤四项系列稀释样品制备浓度(ng/mL)

Table 4 The results of four items of liver fibrosis in series gradient dilution samples(ng/mL)

项目	梯度1	梯度2	梯度3	梯度4	梯度5
HA	7.5	10	14	18	22
LN	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0
PIVNP	0.0	1.5	2.0	3.5	3.0



图2 肝纤四项系列稀释样品制备浓度(ng/mL)

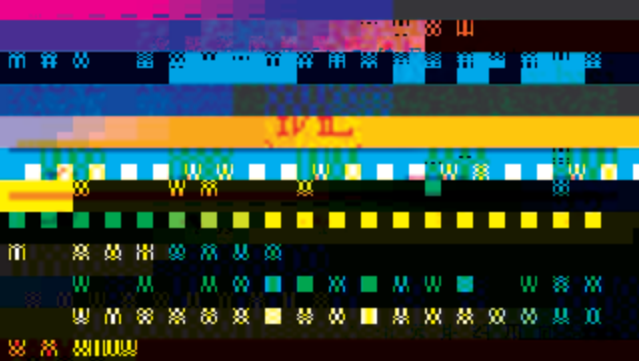


图3 混合血系列稀释样品制备浓度(ng/mL)

Table 3 The results of four items of liver fibrosis in mixed blood samples

项目	第1位	第2位	第3位	第4位	第5位
HA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PIVNP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

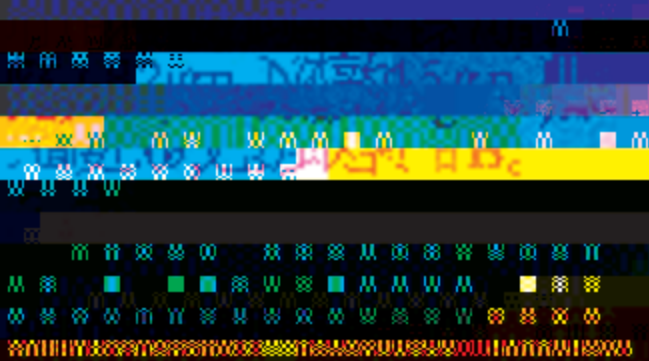


图4 混合血系列稀释样品制备浓度(ng/mL)

Table 3 The results of four items of liver fibrosis in mixed blood samples

项目	第1位	第2位	第3位	第4位	第5位
HA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PIVNP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

表5 各项目梯度样品第1-10位和第46-55位结果(ng/mL)
Table 5 The results of 1-10 and 46-55 in series gradient dilution samples(ng/mL)

序号	HA	LN	PIINP	CIV	序号	HA	LN	PIINP	CIV
1	3.71	0.71	0.00	0.97	46	13.46	2.84	1.98	4.94
2	4.07	0.78	0.00	1.02	47	13.56	2.89	1.99	4.99
3	4.23	0.79	0.29	1.26	48	13.63	2.91	2.01	5.01
4	5.11	0.92	0.00	1.33	49	13.73	2.96	2.04	5.06
5	5.20	1.02	0.00	1.35	50	13.75	2.97	2.05	5.07
6	5.56	1.14	0.00	1.40	51	13.85	3.01	2.08	5.11
7	5.60	1.15	0.00	1.41	52	13.86	3.02	2.09	5.12
8	5.63	1.16	0.00	1.42	53	13.87	3.03	2.10	5.13
9	5.64	1.17	0.00	1.43	54	13.88	3.04	2.11	5.14
10	5.65	1.18	0.00	1.44	55	13.89	3.05	2.12	5.15

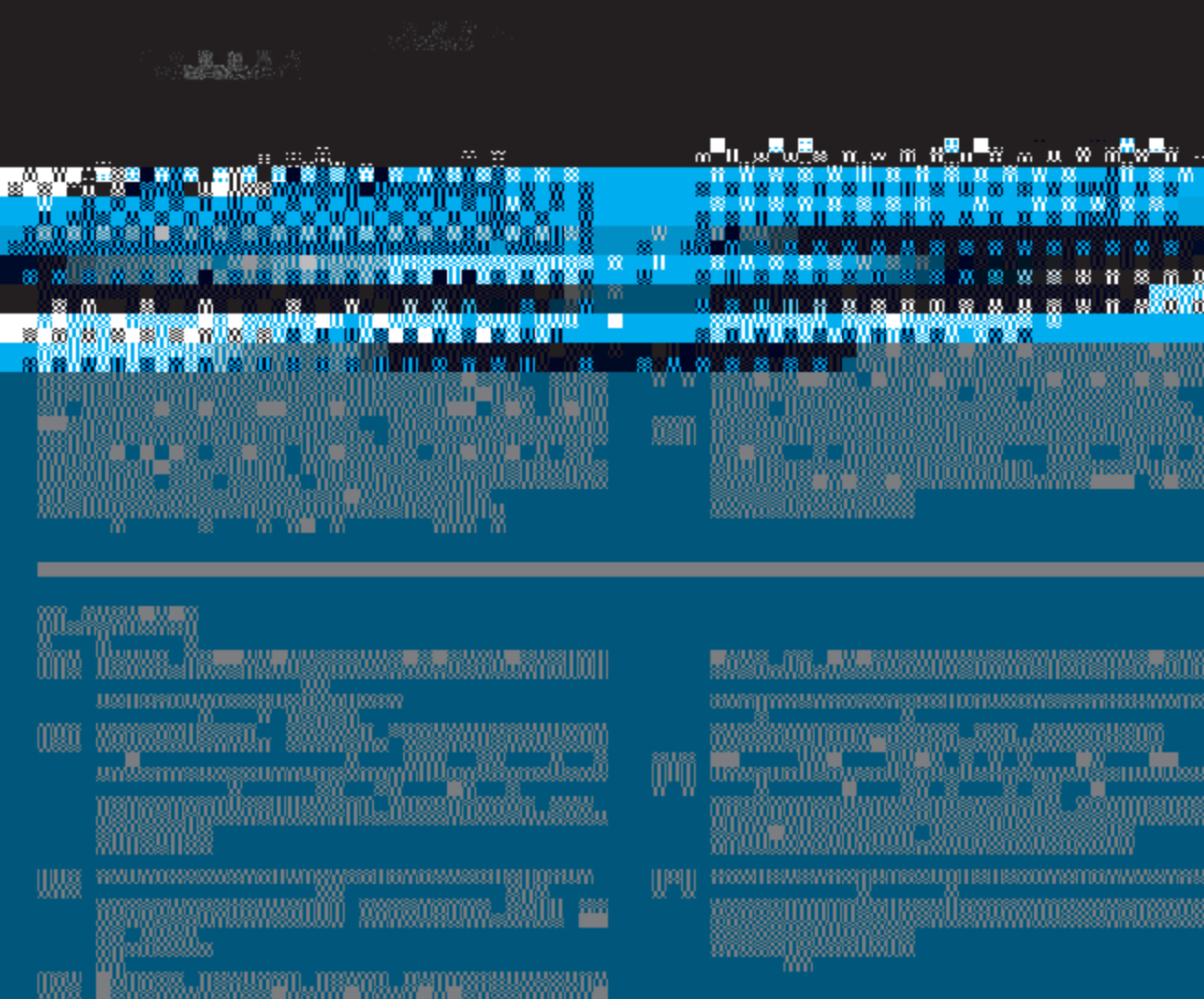
Figure 1 shows the results of the series gradient dilution samples for HA, LN, PIINP, and CIV. The results are presented in a grid format, showing the concentration of each marker in ng/mL for samples 1-10 and 46-55. The concentrations are generally low, with HA ranging from 3.71 to 5.65 ng/mL, LN from 0.71 to 1.18 ng/mL, PIINP from 0.00 to 0.29 ng/mL, and CIV from 0.97 to 1.44 ng/mL. The results for samples 46-55 are similar, with HA ranging from 13.46 to 13.89 ng/mL, LN from 2.84 to 3.05 ng/mL, PIINP from 1.98 to 2.12 ng/mL, and CIV from 4.94 to 5.15 ng/mL.

法和检测系统进行性能评价已经成为趋势。目前检验工作者需要首先摆脱对相关性能指标定义不明确的现象。结合本文,LoB、LoD与F.S均是评价检测系统或方法的灵敏度性能,但与分析灵敏度容易混淆。张秀明等针对临床实验室、仪器和试剂生产厂商及检验医学期刊中不能正确理解和区别灵敏度和检出限的现象,对它们进行详细的分析比较,并给出正确使用的方法^[10]。

国内外鲜有利用EP文件研究肝纤维化血清标志物检测试剂分析性能的相关报道,特别是对空白限、检出限和功能灵敏度的研究更加匮乏。目前国内研究较多的集中在肝纤维化血清学检测的方法建立上。张运洪等对肝纤四项化学发光试剂的精密度、加样针携带污染率、准确度、线性范围和参

参考文献

- [1] Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis: an integrated cellular response to tissue injury[J]. *J Biol Chem*, 2000,275(4):2247.
- [2] 赵洪昌. 慢乙肝患者血清学标志物与肝纤维化的关系[J]. *中国实验诊断学*, 2010,14(12):2021-2022.
- [3] NCCLS. EP17-A protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline[S]. NCCLS, 2004,24(34):1-39.
- [4] 张梦然, 成军. 肝纤维化研究进展[J]. *国际消化病杂志*, 2014,34(6):374-379.
- [5] 王颖, 陈立宇, 冯萍. 肝纤维化的无创诊断技术研究进展[J]. *华西医学*, 2014,29(9):1783-1786.
- [6] 姚真荣, 高玲, 颜绵, 等. 化学发光法检测肝纤维化血清学指标的临床应用[J]. *检验医学杂志*, 2012,17(1):12-15.



·论 著·

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺比较

杜晔颖¹, 李 杰²

【摘 要】目的 比较碱性磷酸酶

标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

关键词 碱性磷酸酶; 抗人绒毛膜促性腺激素抗体; 工艺比较

碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 是一种广泛存在于生物体内的酶, 具有催化磷酸酯键的水解作用, 是生物体内许多生化反应的催化剂。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体 (ALP-anti-hCG) 是一种重要的生物试剂, 广泛应用于临床诊断和基础研究。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺比较, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺, 为碱性磷酸酶标记抗人绒毛膜促性腺激素抗体的工艺提供依据。

表2 仪器和设备
Table 2 List of instruments and equipments

仪器设备名称	厂商
37℃恒温水箱	上海一恒科技仪器有限公司
pH计(Delta320)	梅特勒-托利多
电子天平(AL104)	梅特勒-托利多
电子天平(CP1032)	梅特勒-托利多
电子天平(N1111)	梅特勒-托利多
电子天平(N1112)	梅特勒-托利多
电子天平(N1113)	梅特勒-托利多
电子天平(N1114)	梅特勒-托利多
电子天平(N1115)	梅特勒-托利多
电子天平(N1116)	梅特勒-托利多
电子天平(N1117)	梅特勒-托利多
电子天平(N1118)	梅特勒-托利多
电子天平(N1119)	梅特勒-托利多
电子天平(N1120)	梅特勒-托利多
电子天平(N1121)	梅特勒-托利多
电子天平(N1122)	梅特勒-托利多
电子天平(N1123)	梅特勒-托利多
电子天平(N1124)	梅特勒-托利多
电子天平(N1125)	梅特勒-托利多
电子天平(N1126)	梅特勒-托利多
电子天平(N1127)	梅特勒-托利多
电子天平(N1128)	梅特勒-托利多
电子天平(N1129)	梅特勒-托利多
电子天平(N1130)	梅特勒-托利多
电子天平(N1131)	梅特勒-托利多
电子天平(N1132)	梅特勒-托利多
电子天平(N1133)	梅特勒-托利多
电子天平(N1134)	梅特勒-托利多
电子天平(N1135)	梅特勒-托利多
电子天平(N1136)	梅特勒-托利多
电子天平(N1137)	梅特勒-托利多
电子天平(N1138)	梅特勒-托利多
电子天平(N1139)	梅特勒-托利多
电子天平(N1140)	梅特勒-托利多
电子天平(N1141)	梅特勒-托利多
电子天平(N1142)	梅特勒-托利多
电子天平(N1143)	梅特勒-托利多
电子天平(N1144)	梅特勒-托利多
电子天平(N1145)	梅特勒-托利多
电子天平(N1146)	梅特勒-托利多
电子天平(N1147)	梅特勒-托利多
电子天平(N1148)	梅特勒-托利多
电子天平(N1149)	梅特勒-托利多
电子天平(N1150)	梅特勒-托利多
电子天平(N1151)	梅特勒-托利多
电子天平(N1152)	梅特勒-托利多
电子天平(N1153)	梅特勒-托利多
电子天平(N1154)	梅特勒-托利多
电子天平(N1155)	梅特勒-托利多
电子天平(N1156)	梅特勒-托利多
电子天平(N1157)	梅特勒-托利多
电子天平(N1158)	梅特勒-托利多
电子天平(N1159)	梅特勒-托利多
电子天平(N1160)	梅特勒-托利多
电子天平(N1161)	梅特勒-托利多
电子天平(N1162)	梅特勒-托利多
电子天平(N1163)	梅特勒-托利多
电子天平(N1164)	梅特勒-托利多
电子天平(N1165)	梅特勒-托利多
电子天平(N1166)	梅特勒-托利多
电子天平(N1167)	梅特勒-托利多
电子天平(N1168)	梅特勒-托利多
电子天平(N1169)	梅特勒-托利多
电子天平(N1170)	梅特勒-托利多
电子天平(N1171)	梅特勒-托利多
电子天平(N1172)	梅特勒-托利多
电子天平(N1173)	梅特勒-托利多
电子天平(N1174)	梅特勒-托利多
电子天平(N1175)	梅特勒-托利多
电子天平(N1176)	梅特勒-托利多
电子天平(N1177)	梅特勒-托利多
电子天平(N1178)	梅特勒-托利多
电子天平(N1179)	梅特勒-托利多
电子天平(N1180)	梅特勒-托利多
电子天平(N1181)	梅特勒-托利多
电子天平(N1182)	梅特勒-托利多
电子天平(N1183)	梅特勒-托利多
电子天平(N1184)	梅特勒-托利多
电子天平(N1185)	梅特勒-托利多
电子天平(N1186)	梅特勒-托利多
电子天平(N1187)	梅特勒-托利多
电子天平(N1188)	梅特勒-托利多
电子天平(N1189)	梅特勒-托利多
电子天平(N1190)	梅特勒-托利多
电子天平(N1191)	梅特勒-托利多
电子天平(N1192)	梅特勒-托利多
电子天平(N1193)	梅特勒-托利多
电子天平(N1194)	梅特勒-托利多
电子天平(N1195)	梅特勒-托利多
电子天平(N1196)	梅特勒-托利多
电子天平(N1197)	梅特勒-托利多
电子天平(N1198)	梅特勒-托利多
电子天平(N1199)	梅特勒-托利多
电子天平(N1200)	梅特勒-托利多

再计算各样本 10 次结果的变异系数,即为轮间(inter-run)精密性。

1.3.3.3 热稳定性 将酶试剂分装后分别置于 2℃-8℃和 37℃,3 天后取出在 C1800 上测定 HCG 校准品,比较反应信号的变化幅度。

1.3.3.4 临床比对

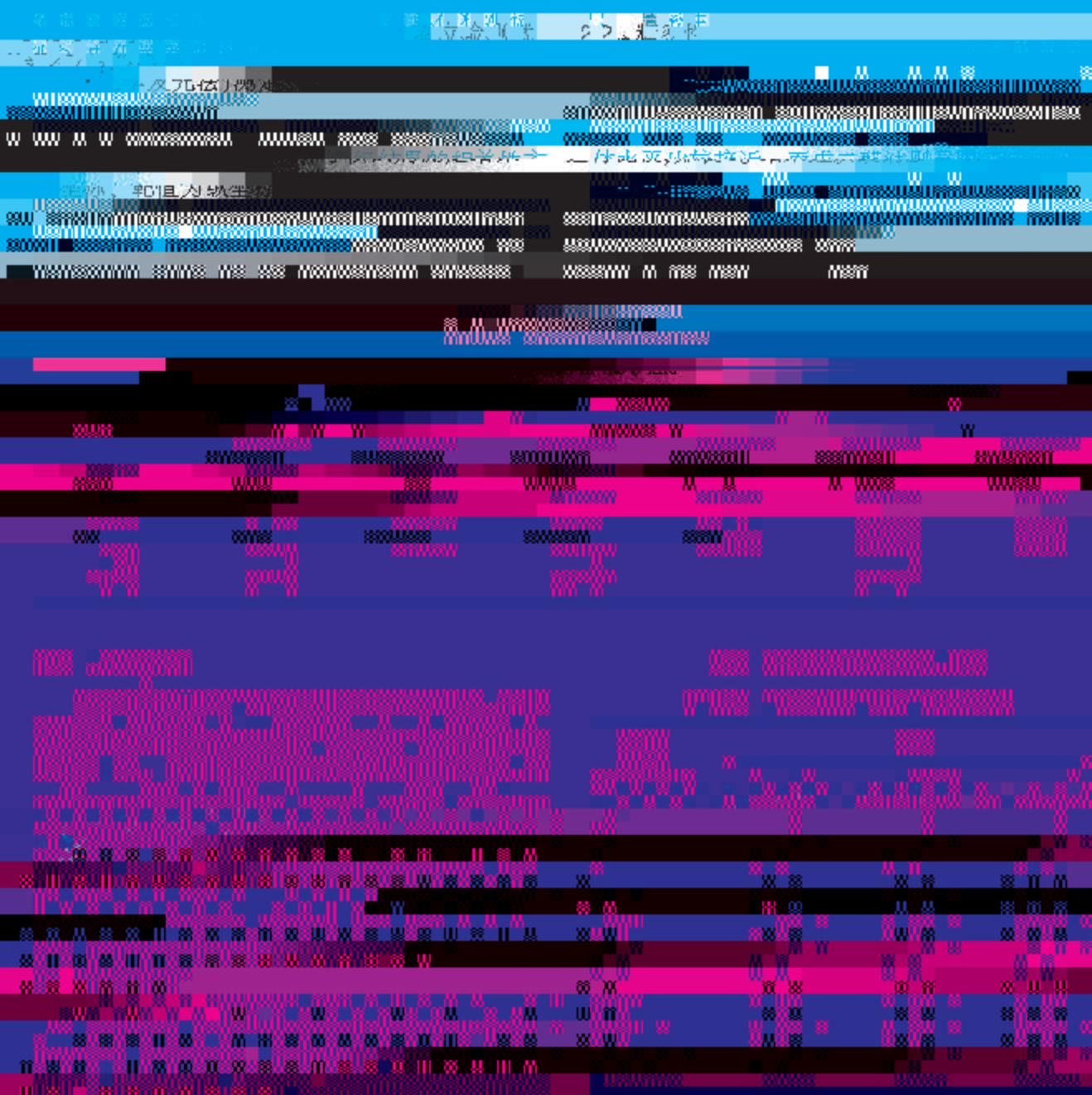
1.3.3.4.1 比对对象 选择 4 个不同厂家的 HCG 校准品,由 4 名不同资质的检验人员

核试剂与靶值之间的差异为纵坐标作图,计算所有差值的 M 及 SD,并根据公式 $A \pm 1.96SD$ 得到覆盖 95%置信区间的一致性界限范围。

2 结果

2.1 最低检测限

在 2 个厂家的校准品中,选择有试剂 C 和 S 表示的 3 个校准品,以 10 倍稀释,以 10 倍稀释的 1.0 IU/L 校准品为测定所测的最低检测限,结果为 1.0 IU/L (n=10, $\bar{x} = 0.5$, $SD = 0.5$)。因此,本试剂



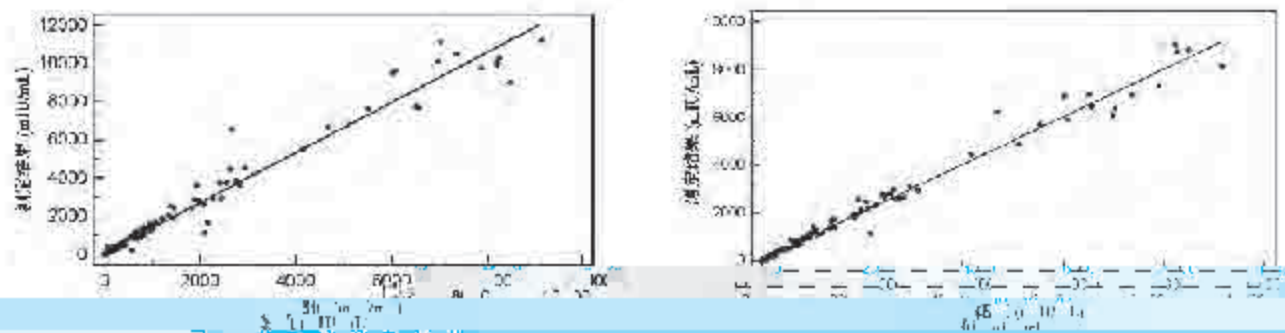


图1 定量结果相关性图

图1 定量结果相关性图

图1 定量结果相关性图

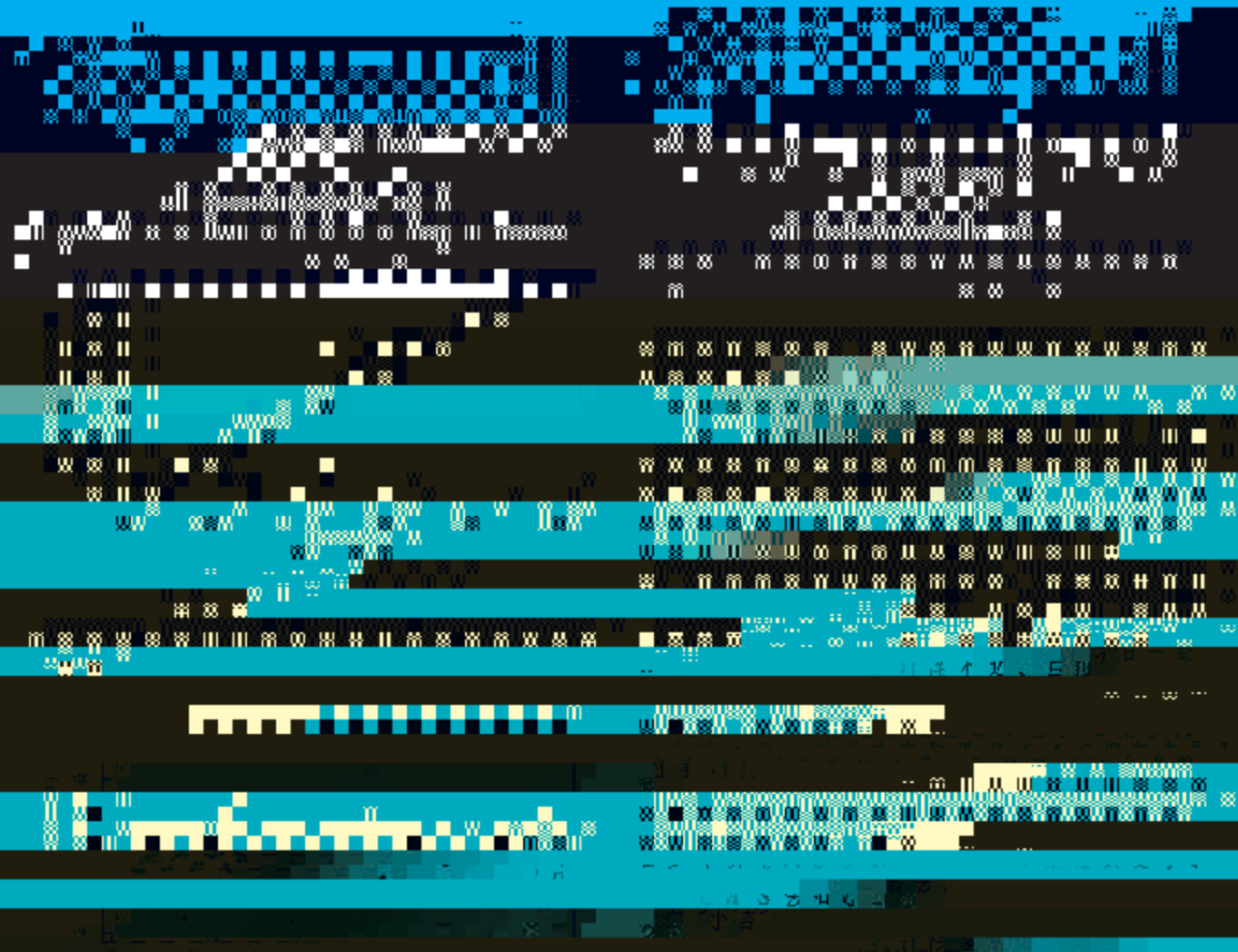


图2 检测结果图

图2 检测结果图

图2 检测结果图

图2 检测结果图

图2 检测结果图

图2 检测结果图

图2 检测结果图

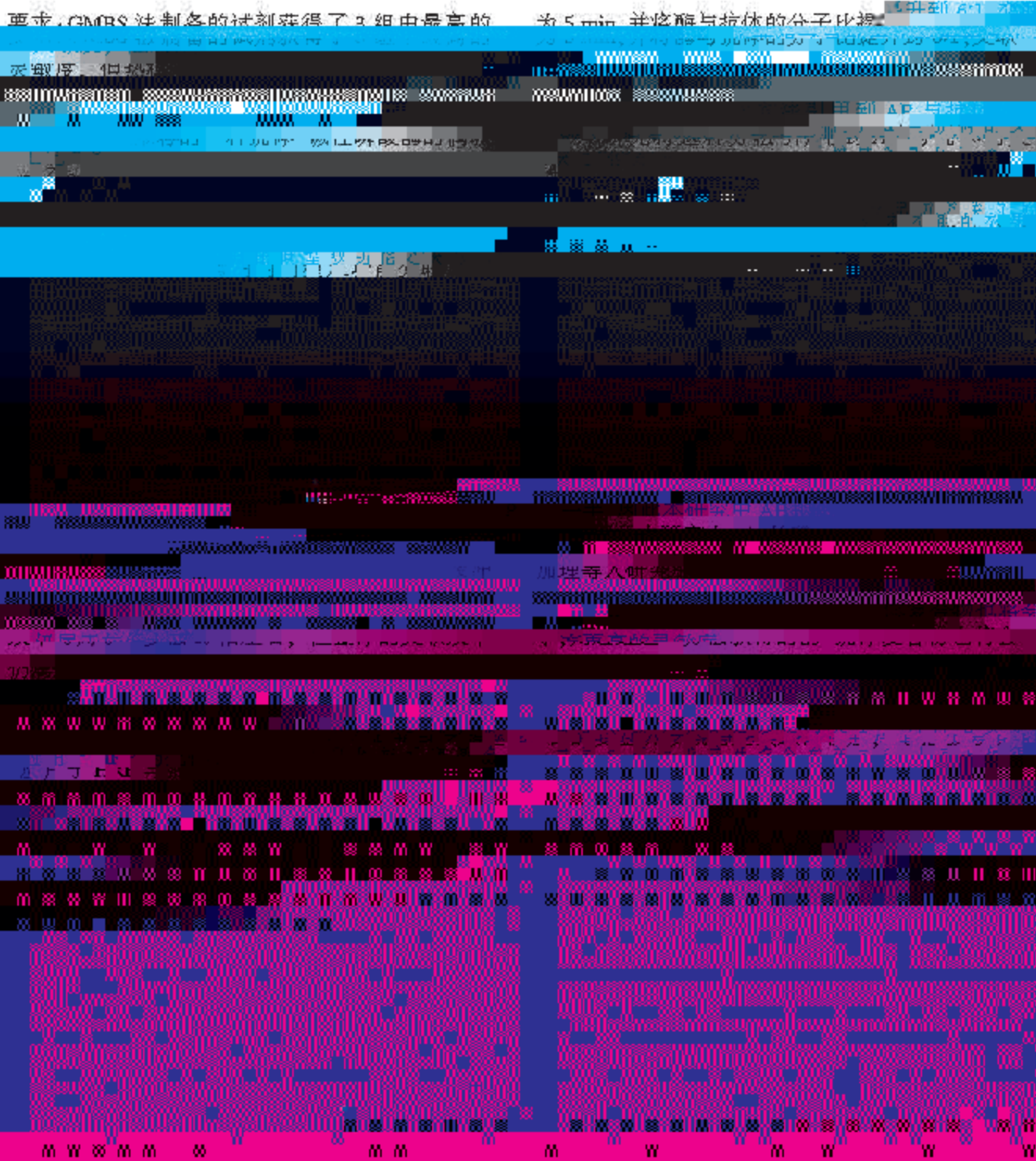
图2 检测结果图

图2 检测结果图

图2 检测结果图

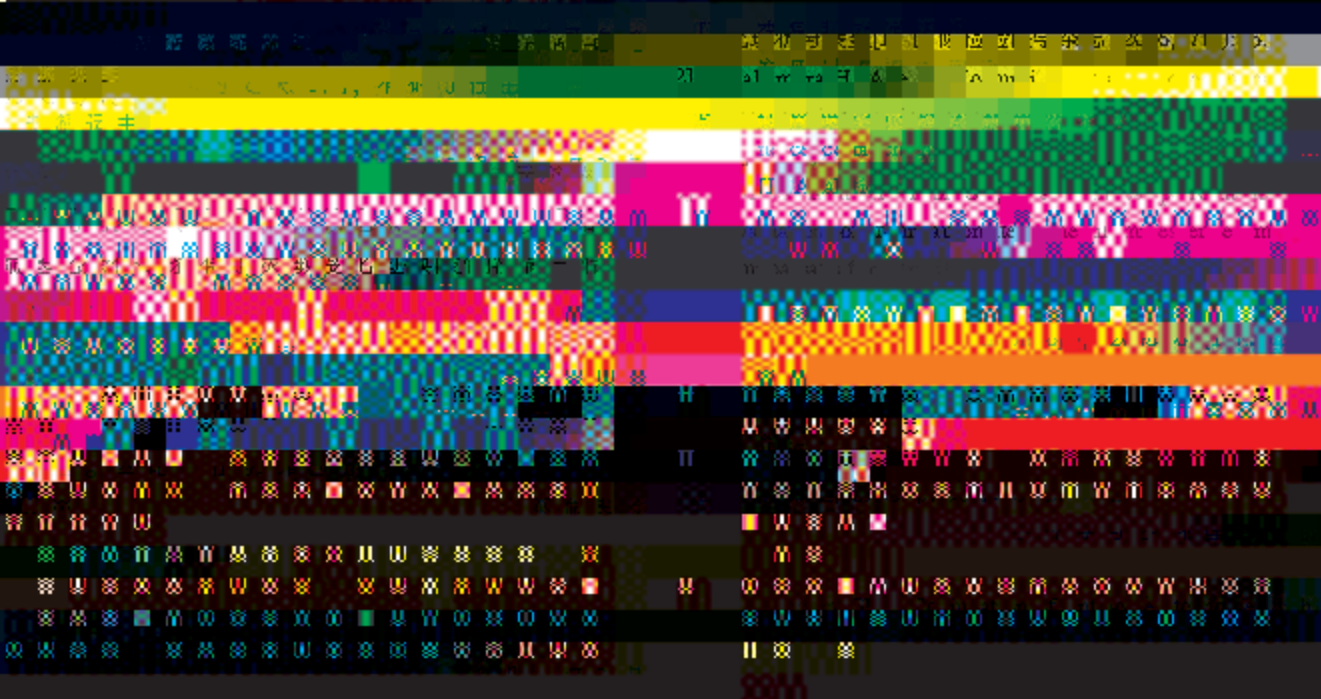
表 5 3套试剂临床测试对比
Table 5 Clinically test comparison of the 3 kits

项目	戊二醛法	过碘酸钠法	GMBS法
相关性方程	$y = 96.0268 + 1.3111x$	$y = 35.9409 + 1.0078x$	$y = 41.4308 + 0.9993x$
相关性系数 R^2	0.967	0.987	0.984
与靶值平均差异(A)	499.0 mIU/mL	46.0 mIU/mL	40.6 mIU/mL
一致性界限	1147.8~2145.8 mIU/mL	426.7~518.8 mIU/mL	479.3~560.4 mIU/mL



足不同领域的分子交联,因此发展非常迅速^[17-20]。Hiroo 等^[21]用 GMBS 活化卡那霉素,用 2-亚氨基噻吩对卵清蛋白巯基化,成功将卡那霉素与卵清蛋白相偶联,并以此制备成卡那霉素免疫检测试剂的固相部分,配合 HRP 标记的抗卡那霉素抗体

NAHT 外,N-琥珀酰亚胺 S-乙酰硫代乙酸盐(N-succinimidyl-S-acetylthioacetate, STAT)及 N-琥珀酰亚胺 S-乙酰硫代丙酸盐(N-succinimidyl-S-propionylthioacetate, STAP)也是较常用的商品化巯基试剂。这些试剂氧化能力并不相同,其



- [7] Yoo B, Ghosh SK, Kumar M, et al. Design of nanodrugs for miRNA targeting in tumor cells[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2014,10(6):1114-1122.
- [8] Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement[J]. *Lancet*, 1986,1(8476):307-310.
- [9] 李福枝, 陈承, 谭平. 戊二醛交联聚乙烯醇壳聚糖膜的制备与性能研究[J]. *化学工程与装备*, 2014,37(12):4-7.
- [10] 李福枝, 陈承, 谭平. 戊二醛交联聚乙烯醇壳聚糖膜的制备与性能研究[J]. *化学工程与装备*, 2014,37(12):4-7.
- [11] 李福枝, 陈承, 谭平. 戊二醛交联聚乙烯醇壳聚糖膜的制备与性能研究[J]. *化学工程与装备*, 2014,37(12):4-7.
- [12] 李福枝, 陈承, 谭平. 戊二醛交联聚乙烯醇壳聚糖膜的制备与性能研究[J]. *化学工程与装备*, 2014,37(12):4-7.
- [13] 李福枝, 陈承, 谭平. 戊二醛交联聚乙烯醇壳聚糖膜的制备与性能研究[J]. *化学工程与装备*, 2014,37(12):4-7.
- [14] 李福枝, 陈承, 谭平. 戊二醛交联聚乙烯醇壳聚糖膜的制备与性能研究[J]. *化学工程与装备*, 2014,37(12):4-7.
- [15] 李福枝, 陈承, 谭平. 戊二醛交联聚乙烯醇壳聚糖膜的制备与性能研究[J]. *化学工程与装备*, 2014,37(12):4-7.
- [16] Minamihata K, Goto M, Kamiya N, et al. Site-specific conjugation of an antibody-binding protein catalyzed by horseradish peroxidase creates a multivalent protein conjugate with high affinity to IgG[J]. *Biotechnology Journal*, 2015,10(1):222-226.
- [17] Shin J, Lee J, Kim A, Jeon J, et al. Novel method for the site-specific conjugation of antibodies to a protein carrier using a novel enzyme, *Artemin*, which is a member of the *Artemin* family of glycosyltransferases[J]. *Journal of Biotechnology*, 2015,10(1):222-226.

游离甲状腺素线性及回收实验的研究

孙臻懿* 潘洁 彭波

[摘要] 目的 本文旨在验证游离甲状腺素可否进行线性范围稀释实验及回收实验,为游离甲状腺素试剂盒校准品参考物质的研发及临床实验室人员提供理论基础及实验数据。方法 本文采用酪蛋白、去甲状腺激素血清、临床血清样本及无蛋白缓冲液作为基质,对相同基质的高浓度游离甲状腺素样本进行稀释,回收实验采用临床样本比例混合的方式进行测试。结果 线性稀释试验中各基质稀释样本的线性相关系数均未到达0.99线性要求,而回收实验结果临床样本的回收率也并未达到85%~115%的回收率要求,仅为58.7%。结论 本文验证了游离甲状腺素无法进行线性范围稀释及回收实验,建议采用超滤法或者平衡透析法等精确方法对游离甲状腺素试剂盒校准品参考物质进行赋值,同时不建议混合游离甲状腺素样本。

[关键词] 游离甲状腺素;稀释;回收;全自动化学发光法

The research of free thyroxine linearity and recovery experiment

SUN Zhenyi*, PAN Jie, PENG Bo

(Shanghai Kehua Bioengineering Co., Ltd, Shanghai, China, 200233)

[ABSTRACT] Objective To confirm the experiment of the linearity dilution and recovery whether fit for free thyroxine, and to provide a theoretical basis and experimental data for the development of free thyroxine calibration and clinical laboratory. Methods In this paper, casein, stripped serum, clinical serum samples and protein free buffer were used as matrices to dilute. The clinical samples blended in proportion were tested in recovery experiment. Results Linear correlation coefficient of all the diluted matrix samples in the linearity experiment were less than 0.99, and the recovery rate of the recovery experiment was only 58.7%, which didn't reach the requirement of 85%~115%. Conclusion The concentration of free thyroxine could not be linearity diluted and the recovery of the free thyroxine samples performed not very well. It is suggested that ultrafiltration, equilibrium dialysis or other precise methods should be applied to calibrate the free thyroxine assay, and the free thyroxine samples should not be mixed.

[KEY WORDS] Free thyroxine; Dilution; Recovery; Fully automatic chemiluminescence method

2010年中华医学会内分泌学分会开展的《十城市社区居民甲状腺调查》显示,在调查中的10个城市15 181名居民中,甲状腺结节的患病率则从2006年的10.2%提高到了18.6%,甲状腺机能减退患病率从3.8%提高到了6.5%,而其中能够接受正规有效治疗的患者则不到5%。由此可见,中

国居民人群由于碘盐摄入过多,精神压力过大等原因造成了中国人群甲状腺疾病的患病率呈逐年走高的趋势。

作为检测甲状腺状态的重要检测项目,游离甲状腺素的检测已被世界所认可。在人体内,99.95%以上的甲状腺素与甲状腺素结合蛋白结

项目基金:国家高技术研究发展计划(863计划)(2011AA02A101)

作者单位:上海科华生物工程股份有限公司,上海 200233

*通讯作者:孙臻懿, E-mail: sunzhenyi@skhb.com

合,处于结合状态,其中与甲状腺素结合球蛋白结合的约占75%,与白蛋白及甲状腺素结合前白蛋白结合的则各占10%和15%^[1,2];游离的甲状腺素(free thyroxine, FT4)只占不到0.03%。FT4是甲状腺素(thyroxine, T4)的生理活性形式,反映了激素产生(甲状腺分泌、甲状腺外T4向三碘甲状腺原氨酸的转化)和激素清除(血管外转运、代谢)的真实状态。FT4比总甲状腺素更灵敏,是诊断原发性甲亢或甲减以及治疗

1 实验材料及方法

1.1 实验材料

全自动化学发光测定仪卓越C1800、卓越C1820(上海科华实验系统有限公司),移液器,漩涡震荡仪,上海科华生物工程股份有限公司生产的游离甲状腺素(FT4)定量测定试剂盒(化学发光法)(试剂批号:20131201501)。



B的体积;C-样本C的测定浓度;C₀样本B的测定浓度;C₁-样本A的浓度。

按照 GB/T 26124-2011《临床化学体外诊断试剂(盒)》的要求,当回收率R在85% - 115%的范围内时,认为样本回收实验符合要求。

2 结果

2.1 样本线性实验

本实验选取4种基质的样本(酪蛋白,去甲状腺激素血清,临床血清样本及无蛋白缓冲液样本),分别按表1进行稀释,其中酪蛋白样本采用

酪蛋白基质溶液线性稀释的结果见表2,可以看出采用酪蛋白基质进行线性稀释实验的线性相关系数为0.98812,未达到0.99的线性相关系数要求预期。酪蛋白基质样本采用酪蛋白溶液线性稀释结果见图1。

去甲状腺激素血清基质样本采用去甲状腺激素血清进行线性稀释的结果见表3,可以看出采用去甲状腺激素血清进行线性稀释实验的线性相关系数为0.9878,未达到0.99的线性相关系数要求预期。去甲状腺激素样本采用去甲状腺激素血清线性稀释结果见图2。

表2 酪蛋白基质样本采用酪蛋白溶液线性稀释结果

Table 2 Results of the linearity dilution of casein matrix samples by using casein diluent

	理论值(ng/dL)	测定值(ng/dL)	估计值(ng/dL)	绝对偏差	相对偏差%
100%	7.15	7.15	6.59	-0.56	-8.5%
75%	5.36	4.54	4.85	-0.51	-9.5%
50%	3.57	2.61	3.12	-0.45	-12.6%
25%	1.79	1.15	1.59	-0.23	-12.9%
10%	0.71	0.50	0.65	-0.15	-21.1%
7.5%	0.54	0.38	0.47	-0.11	-20.4%
5%	0.36	0.24	0.30	-0.08	-22.2%
r	0.98812				



图1 酪蛋白基质样本采用酪蛋白溶液线性稀释结果

图2 去甲状腺激素血清基质样本采用去甲状腺激素血清线性稀释结果

表3 去甲状腺激素血清基质样本采用去甲状腺激素血清线性稀释结果

Table 3 Results of the linearity dilution of TDS samples by using TDS

	理论值(ng/dL)	测定值(ng/dL)	估计值(ng/dL)	绝对偏差	相对偏差%
100%	5.34	5.34	4.57	0.77	16.74%
75%	4.00	2.83	3.41	0.59	17.21%
50%	2.67	1.63	2.26	0.63	27.89%
25%	1.33	0.89	1.10	0.21	19.14%
10%	0.53	0.55	0.40	0.15	36.67%
7.5%	0.40	0.51	0.29	0.22	77.62%
5%	0.27	0.47	0.17	0.30	173.56%
r	0.9878				

表4 临床样本采用去甲状腺激素血清线性稀释结果

Table 4 Results of the linearity dilution of clinical serum samples by using TDS

	理论值(ng/dL)	测定值(ng/dL)	估计值(ng/dL)	绝对偏差	相对偏差%
100%	10.63	10.63	8.64	1.99	23.0%
75%	7.97	4.81	6.31	1.50	23.8%
50%	5.32	2.28	3.97	1.69	42.7%
25%	2.66	1.13	1.63	0.51	30.9%
10%	1.06	0.67	0.23	0.43	186.3%
7.5%	0.80	0.58	0.00	0.58	50042.5%
5%	0.53	0.48	0.23	0.72	306.2%
r	0.9356				

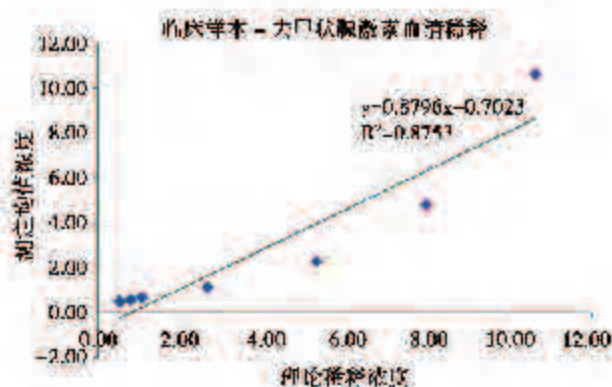


图3 临床样本采用去甲状腺激素血清线性稀释结果图
Figure 3 The graph of linearity dilution of clinical samples by using TDS

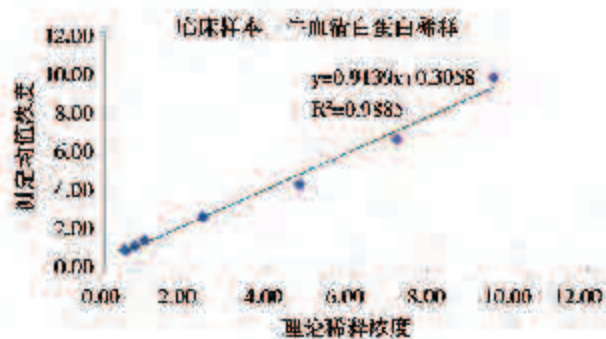
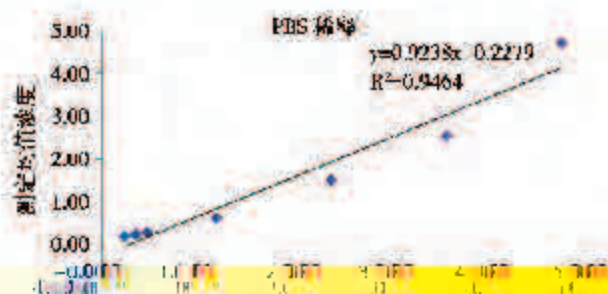


图4 临床样本采用酪蛋白溶液线性稀释结果图
Figure 4 The graph of linearity dilution of clinical samples by using casein diluent

缓冲液基质溶液进行线性稀释实验的线性相关系数为0.9728,未达到0.99的线性相关系数要求预期。临床样本采用磷酸缓冲液基质溶液线性稀释结果图见图5。

将线性稀释实验数据总结如下:采用酪蛋白基质进行线性稀释实验的线性相关系数为

0.98812;采用去甲状腺激素血清进行线性稀释实验的线性相关系数为0.9878;采用去甲状腺激素血清基质进行线性稀释实验的线性相关系数为0.9356;采用酪蛋白基质溶液进行线性稀释实验的线性相关系数为0.9887;采用磷酸缓冲液基质溶液进行线性稀释实验的线性相关系数为0.9728,



均未达到0.99的线性相关系数要求预期。

2.2 回收实验

本实验采用2份临床血清样本A、B,按1.2操作进行回收实验,回收实验结果见表7。回收率结果仅为58.7%,未达到85%~115%的回收率要求预期。

Table 7: Recovery experiment results. The table is severely corrupted with heavy black and white noise, making the data illegible. It appears to have multiple columns and rows, but the content cannot be transcribed.

间存在蛋白种类及浓度的差异,造成了各样本间平衡结合常数 K 相同的可能性极小,故游离甲状腺素样本线性稀释的可能性很小,并不存在线性

故笔者建议游离激素的赋值采用更为精确、不易受到干扰的超滤法及平衡透析法对检测方法进行溯源,若无法采用以上方法,可采用



·论 著·

上海市健康成人血清铁蛋白参考值调查

李 杰* 李 琦* 李 琦* 李 琦*

【摘要】目的：调查上海市健康成人血清铁蛋白参考值。方法：以上海市各区镇为研究对象，采用随机抽样的方法，抽取健康成人血清铁蛋白进行测定。结果：上海市健康成人血清铁蛋白参考值为：男性为38.9 ug/L，女性为21.6 ug/L。结论：上海市健康成人血清铁蛋白参考值为：男性为38.9 ug/L，女性为21.6 ug/L。

【关键词】血清铁蛋白；参考值；上海市健康成人

血清铁蛋白是体内铁的主要贮存形式，其水平的高低反映了体内铁的贮存情况。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。血清铁蛋白测定在临床诊断中具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 调查对象

来自上海地区体检的健康成人, B超结果显示无脂肪肝、肝硬化及其它肝部疾病, 无炎症、感染及肾、肝和肺部慢性疾病。年龄为 18 岁-65 岁, 平均年龄 32 岁, 共计 324 例样本, 其中男 164 例, 女 160 例。

健康体检数据见表 1。

年龄	男	女
18-20	2	2
21-25	10	10
26-30	20	20
31-35	30	30
36-40	40	40
41-45	50	50
46-50	60	60
51-55	70	70
56-60	80	80
61-65	90	90

1.2 仪器及试剂

全自动化学发光测定仪卓越 C1800 (上海科华实验系统有限公司生产) 及配套的铁蛋白 (Ferritin) 定量测定试剂盒 (化学发光法) (上海科华生物工程股份有限公司生产)。

1.3 测定方法

测定方法符合化学发光法。每次测定前均用质控品进行校准, 质控品在有效期内使用, 质控品检测结果在允许范围内方可进行检测。

检测数据由 STS Stat 9.0 软件进行分析。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

机检测。

1.3 仪器及试剂

全自动化学发光测定仪卓越 C1800 (上海科华实验系统有限公司生产) 及配套的铁蛋白 (Ferritin) 定量测定试剂盒 (化学发光法) (上海科华生物工程股份有限公司生产)。

1.4 测定方法

测定方法符合化学发光法。

1.5 质量控制

每次测定前均用质控品进行校准, 质控品在有效期内使用, 质控品检测结果在允许范围内方可进行检测。

检测数据由 STS Stat 9.0 软件进行分析。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

统计学分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

2 结果

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

健康体检数据见表 1。

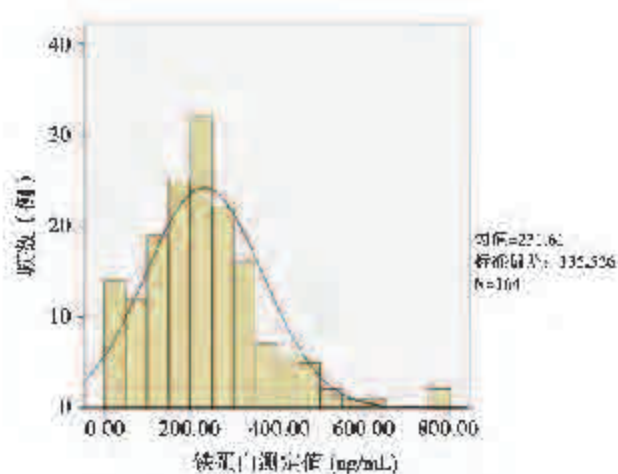


图1 164例健康男性人群铁蛋白测定结果直方图
Figure 1 Histogram of ferritin in 164 health male

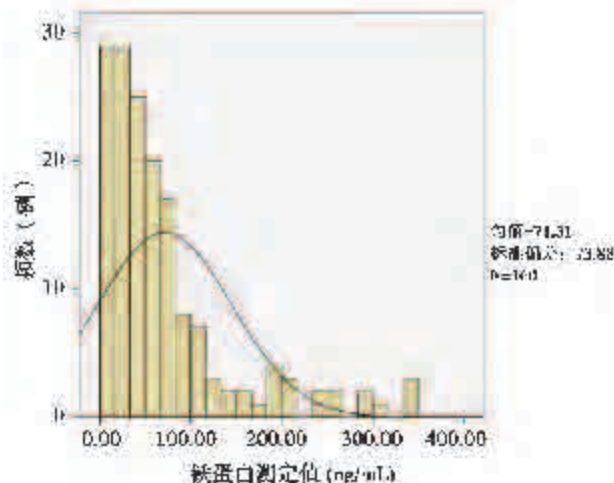


图2 160例健康女性人群铁蛋白测定结果直方图
Figure 2 Histogram of ferritin in 160 health female

表3 不同地域或其他人群的不同参考值范围

Table3 The different reference rang of different regions or the rest of the population

地区	年龄分布(岁)	参考值范围(ng/mL) (5%~95%百分位数浓度范围)		方法
		男性	女性	
上海市	18~65	33.79~485.2	6.37~251.0	化学发光法
德国 ^[10]	4~19	28.0~209.2	17.6~243.5	化学发光法
广西省 ^[11]	20~69	104.0~832.2	—	电化学发光法
四川省宜宾市 ^[12]	11~75	56.70~192.68	47.58~166.78	放射免疫法
浙江省杭州市 ^[13]	18~95	77.5~615.6	7.0~264.8	电化学发光法
广东省惠州市 ^[14]	25~82	46.7~623.9	17.2~201.5	电化学发光法
四川省攀枝花市 ^[15]	39~60	65.2~573.6	12.2~256.3	电化学发光法

2.3 调查结果与文献报告的血清铁蛋白结果比较

根据文献^[10-15]报道,不同国家或不同人种、同一国家不同地区、不同民族的铁蛋白在正常人群的参考范围都略有不同,因此参考值需要考虑地域或其他人群差异信息。参考美国临床实验室标准化协会 C28-A2^[20]要求,建议各地区、各实验室建立各自的参考范围。

3 讨论

铁蛋白是人体细胞内最重要的储铁蛋白,其主要功能是贮存并调节血清铁水平。同时,铁蛋白对造血及免疫系统具有重要的调控作用。随着经

济的发展,人们的生活水平不断提高,人们的生活方式和饮食结构发生了改变,体内的铁贮存量也有明显的变化。血清铁蛋白参考值范围的建立受很多变量的影响,包括研究人群和实验室使用方法。根据研究表明,年龄、体质量指数、运动、饮酒均会影响血清铁蛋白浓度。

医学参考值范围 (medical reference interval) 又称正常值。不同的条件(如地区、性别、年龄、生活水平、测定方法等)测出的范围也不同,所以不同的人群、不同的实验室应有自己的参考值范围。本次调查结果显示男性、女性血清铁蛋白的参考值与文献报道不一致,这可能与不同地区的人群条件、不同的检测标准化条件有关,这与国内外文献

报道的一致。根据表3显示,成人男性血清铁蛋白浓度明显高于女性,所以参考值范围有必要按照性别分组来设定。本次调查得出的参考值范围仅供上海地区使用上海科华生物工程股份有限公司生产的铁蛋白(Ferritin)定量测定试剂盒(化学发光法)的实验室作为参考。

临床检验项目的参考区间是临床医生判断患

iron disorders: diagnostic implications[J]. *Clinical Chemistry*, 2011,57(12):1650-1669.

[8] Takeshi N, Takahiro K, Masayoshi N. Importance of ferritin for optimizing anemia therapy in chronic kidney disease[J]. *Am J Nephrol*, 2010,32(5):439-446.

[9] 金丕焕,陈峰. 医用统计学方法(第三版)[M]. 复旦大学出版社, 2009, 11:25.

[10] Ehrlinger M^{1,2,3,4}, Albrecht W, Falicki J, et al. Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

健康与否的重要标准。实验室给临床提供的参考值范围,是建立在健康人群的基础上,通过统计学方法计算得出的。因此,参考值范围的设定,应充分考虑个体的健康状态。

健康人群,以区分个体的健康状态。

一、健康人群,以区分个体的健康状态。

二、健康人群,以区分个体的健康状态。

三、健康人群,以区分个体的健康状态。

四、健康人群,以区分个体的健康状态。

五、健康人群,以区分个体的健康状态。

六、健康人群,以区分个体的健康状态。

七、健康人群,以区分个体的健康状态。

八、健康人群,以区分个体的健康状态。

九、健康人群,以区分个体的健康状态。

十、健康人群,以区分个体的健康状态。

十一、健康人群,以区分个体的健康状态。

十二、健康人群,以区分个体的健康状态。

十三、健康人群,以区分个体的健康状态。

十四、健康人群,以区分个体的健康状态。

十五、健康人群,以区分个体的健康状态。

十六、健康人群,以区分个体的健康状态。

十七、健康人群,以区分个体的健康状态。

十八、健康人群,以区分个体的健康状态。

十九、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十一、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十二、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十三、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十四、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十五、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十六、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十七、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十八、健康人群,以区分个体的健康状态。

二十九、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十一、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十二、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十三、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十四、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十五、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十六、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十七、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十八、健康人群,以区分个体的健康状态。

三十九、健康人群,以区分个体的健康状态。

四十、健康人群,以区分个体的健康状态。

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

Reference values for serum ferritin in healthy individuals.

先天性肾上腺皮质增生症筛查的相关进展

吕萌萌¹ 朱宇皇² 张跃峰² 付光宇^{2*}

【摘要】先天性肾上腺皮质增生症(congenital adrenal hyperplasia, CAH)是一种常染色体隐性遗传疾病,其发病原因是由于在肾上腺合成皮质醇途径中所需酶的缺失,其中90%以上属于21-羟化酶缺失。无论是什么性别,患者在酶缺失状态下如果没有及时诊断或治疗,在出生后都会经历快速生长,或者性别模糊的临床症状。如果出现几种酶同时缺失的情况,更会造成新生儿失盐,甚至死亡。本文将对CAH的新生儿筛查、产前诊断、非新生儿诊疗和分子诊断技术进行讨论,以便更加深入地了解CAH的特征,同时对其诊断方法有更全面的认识。

【关键词】先天性肾上腺皮质增生症; 新生儿; 筛查; 分子诊断

The progress of screening for congenital adrenal hyperplasia

LV Mengmeng¹, ZHU Yuhuang², ZHANG Yuefeng², FU Guangyu^{2*}

(1.Department of Clinical Laboratory, the Sixth People's Hospital of Zhengzhou City, Zhengzhou, Henan, China, 450015; 2. Zhengzhou Autobio Biological Engineering Co.Ltd, Zhengzhou, Henan, China, 450016)

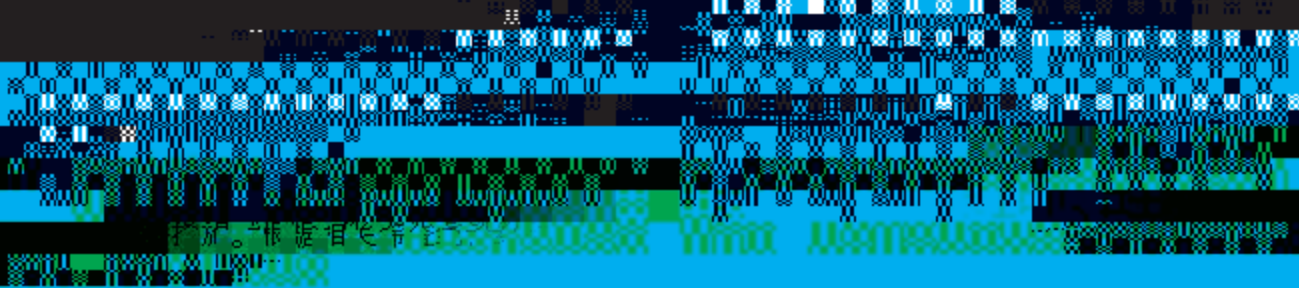
【ABSTRACT】 Congenital adrenal hyperplasia is a kind of autosomal recessive disorders which resulting from the deficiency of the enzymes required for cortisol synthesis. The most frequent is steroid 21-hydroxylase deficiency, which accounting for more than 90 percent of cases. Both males and females will undergo rapid growth or gender blur if they haven't been diagnosed or treated in time. And in the

染色体核型分析、肾上腺的超声检查、血浆或血清17-羟孕酮(17-hydroxyprogesterone, 17-OHP)浓度的检测等即可判定。对于非经典型新生儿病例来讲,出生时并无明显的临床症状,至青春期时,女性才会由于雄性激素的增加而表现为女性第二性征无发育的临床症状,出现嗓音粗、闭经、体毛重、有喉结、肌肉相对发达、阴毛呈男性分布、皮肤和外生殖器色素沉着等^[2]。而以不孕及多囊卵巢综合

浓度会大于 90 nmol/L, 在 12 h-24 h 后恢复至正常。当 17-OHP 浓度大于 500 nmol/L 时,会鉴定为典型 CAH。17-OHP 浓度在 150 nmol/L-200 nmol/L 之间时,通常会出现各种类型的 CAH 或假阳性患者当中。以上提到的参考性阳性切割点虽然已够详尽,但 17-OHP 筛查的阳性切割点仍应根据各实验室方法制定,并加以调整。同时确诊的阳性病例仍需密切随访,通过测定血清睾酮、促黄体生成素及 17-COH 来进一步鉴别。

目前新生儿先天性肾上腺皮质增生症(CAH)的发病率呈上升趋势,且临床表现多样,给临床诊断带来一定困难。本文报道 1 例非经典型 CAH 患儿,其临床表现不典型,通过测定血清 17-OHP 浓度及 17-COH 浓度进行鉴别,最终确诊为 CAH。

目前新生儿先天性肾上腺皮质增生症(CAH)的发病率呈上升趋势,且临床表现多样,给临床诊断带来一定困难。本文报道 1 例非经典型 CAH 患儿,其临床表现不典型,通过测定血清 17-OHP 浓度及 17-COH 浓度进行鉴别,最终确诊为 CAH。



Case No.	Sex	Age	17-OHP (nmol/L)	17-COH (nmol/L)	Diagnosis
1	Female	1 year	150	1.5	Non-classic CAH
2	Female	2 years	180	1.8	Non-classic CAH
3	Female	3 years	200	2.0	Non-classic CAH
4	Female	4 years	220	2.2	Non-classic CAH
5	Female	5 years	240	2.4	Non-classic CAH
6	Female	6 years	260	2.6	Non-classic CAH
7	Female	7 years	280	2.8	Non-classic CAH
8	Female	8 years	300	3.0	Non-classic CAH
9	Female	9 years	320	3.2	Non-classic CAH
10	Female	10 years	340	3.4	Non-classic CAH
11	Female	11 years	360	3.6	Non-classic CAH
12	Female	12 years	380	3.8	Non-classic CAH
13	Female	13 years	400	4.0	Non-classic CAH
14	Female	14 years	420	4.2	Non-classic CAH
15	Female	15 years	440	4.4	Non-classic CAH
16	Female	16 years	460	4.6	Non-classic CAH
17	Female	17 years	480	4.8	Non-classic CAH
18	Female	18 years	500	5.0	Non-classic CAH
19	Female	19 years	520	5.2	Non-classic CAH
20	Female	20 years	540	5.4	Non-classic CAH
21	Female	21 years	560	5.6	Non-classic CAH
22	Female	22 years	580	5.8	Non-classic CAH
23	Female	23 years	600	6.0	Non-classic CAH
24	Female	24 years	620	6.2	Non-classic CAH
25	Female	25 years	640	6.4	Non-classic CAH
26	Female	26 years	660	6.6	Non-classic CAH
27	Female	27 years	680	6.8	Non-classic CAH
28	Female	28 years	700	7.0	Non-classic CAH
29	Female	29 years	720	7.2	Non-classic CAH
30	Female	30 years	740	7.4	Non-classic CAH
31	Female	31 years	760	7.6	Non-classic CAH
32	Female	32 years	780	7.8	Non-classic CAH
33	Female	33 years	800	8.0	Non-classic CAH
34	Female	34 years	820	8.2	Non-classic CAH
35	Female	35 years	840	8.4	Non-classic CAH
36	Female	36 years	860	8.6	Non-classic CAH
37	Female	37 years	880	8.8	Non-classic CAH
38	Female	38 years	900	9.0	Non-classic CAH
39	Female	39 years	920	9.2	Non-classic CAH
40	Female	40 years	940	9.4	Non-classic CAH
41	Female	41 years	960	9.6	Non-classic CAH
42	Female	42 years	980	9.8	Non-classic CAH
43	Female	43 years	1000	10.0	Non-classic CAH
44	Female	44 years	1020	10.2	Non-classic CAH
45	Female	45 years	1040	10.4	Non-classic CAH
46	Female	46 years	1060	10.6	Non-classic CAH
47	Female	47 years	1080	10.8	Non-classic CAH
48	Female	48 years	1100	11.0	Non-classic CAH
49	Female	49 years	1120	11.2	Non-classic CAH
50	Female	50 years	1140	11.4	Non-classic CAH
51	Female	51 years	1160	11.6	Non-classic CAH
52	Female	52 years	1180	11.8	Non-classic CAH
53	Female	53 years	1200	12.0	Non-classic CAH
54	Female	54 years	1220	12.2	Non-classic CAH
55	Female	55 years	1240	12.4	Non-classic CAH
56	Female	56 years	1260	12.6	Non-classic CAH
57	Female	57 years	1280	12.8	Non-classic CAH
58	Female	58 years	1300	13.0	Non-classic CAH
59	Female	59 years	1320	13.2	Non-classic CAH
60	Female	60 years	1340	13.4	Non-classic CAH
61	Female	61 years	1360	13.6	Non-classic CAH
62	Female	62 years	1380	13.8	Non-classic CAH
63	Female	63 years	1400	14.0	Non-classic CAH
64	Female	64 years	1420	14.2	Non-classic CAH
65	Female	65 years	1440	14.4	Non-classic CAH
66	Female	66 years	1460	14.6	Non-classic CAH
67	Female	67 years	1480	14.8	Non-classic CAH
68	Female	68 years	1500	15.0	Non-classic CAH
69	Female	69 years	1520	15.2	Non-classic CAH
70	Female	70 years	1540	15.4	Non-classic CAH
71	Female	71 years	1560	15.6	Non-classic CAH
72	Female	72 years	1580	15.8	Non-classic CAH
73	Female	73 years	1600	16.0	Non-classic CAH
74	Female	74 years	1620	16.2	Non-classic CAH
75	Female	75 years	1640	16.4	Non-classic CAH
76	Female	76 years	1660	16.6	Non-classic CAH
77	Female	77 years	1680	16.8	Non-classic CAH
78	Female	78 years	1700	17.0	Non-classic CAH
79	Female	79 years	1720	17.2	Non-classic CAH
80	Female	80 years	1740	17.4	Non-classic CAH
81	Female	81 years	1760	17.6	Non-classic CAH
82	Female	82 years	1780	17.8	Non-classic CAH
83	Female	83 years	1800	18.0	Non-classic CAH
84	Female	84 years	1820	18.2	Non-classic CAH
85	Female	85 years	1840	18.4	Non-classic CAH
86	Female	86 years	1860	18.6	Non-classic CAH
87	Female	87 years	1880	18.8	Non-classic CAH
88	Female	88 years	1900	19.0	Non-classic CAH
89	Female	89 years	1920	19.2	Non-classic CAH
90	Female	90 years	1940	19.4	Non-classic CAH
91	Female	91 years	1960	19.6	Non-classic CAH
92	Female	92 years	1980	19.8	Non-classic CAH
93	Female	93 years	2000	20.0	Non-classic CAH
94	Female	94 years	2020	20.2	Non-classic CAH
95	Female	95 years	2040	20.4	Non-classic CAH
96	Female	96 years	2060	20.6	Non-classic CAH
97	Female	97 years	2080	20.8	Non-classic CAH
98	Female	98 years	2100	21.0	Non-classic CAH
99	Female	99 years	2120	21.2	Non-classic CAH
100	Female	100 years	2140	21.4	Non-classic CAH

色谱或串联质谱法测定^[27],但昂贵的成本将是普及的难点。

OHP的浓度,成功地进行了CAH的产前诊断^[28]。此后也有许多学者发表了相关的报

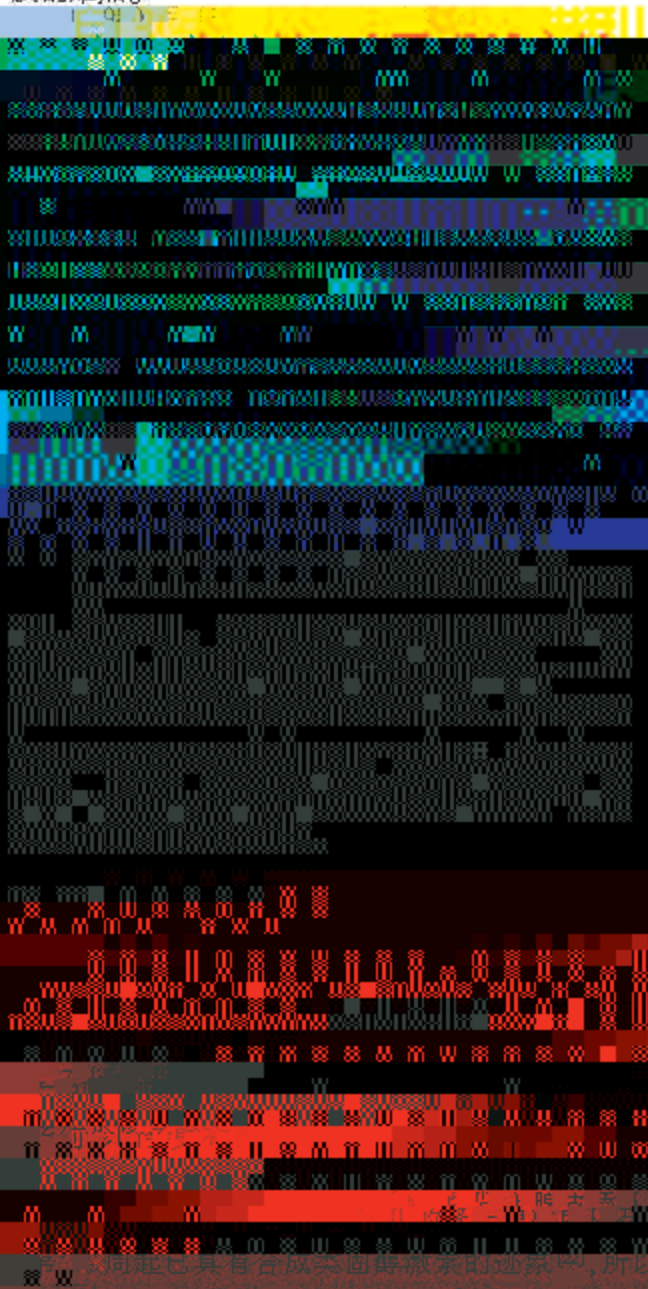


图1 羊水17-OHP的GC-MS图

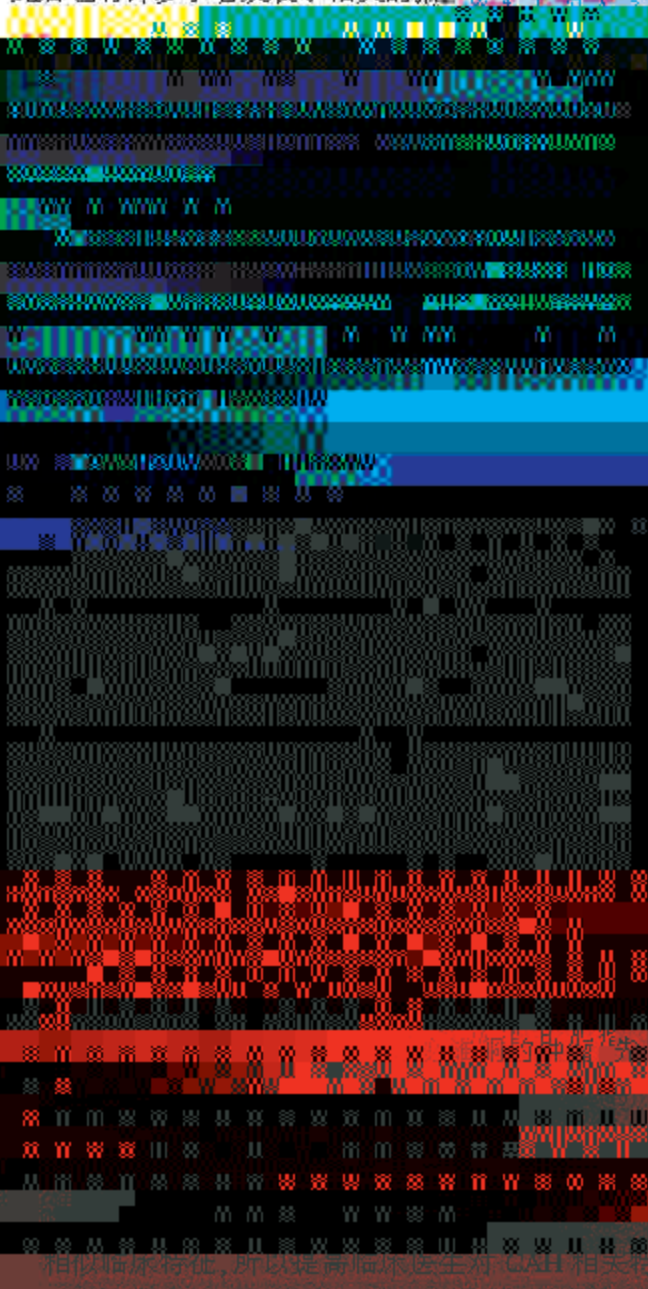


图2 羊水17-OHP的GC-MS图

问题是其符合类固醇激素的总类^[29],所以在孕16-20周时,可以取羊水进行孕三醇、17-OHP等生化项目的检测。
胎儿血液中的类固醇激素可以通过肾脏、羊膜、皮肤、肺、肠道等进入羊水,羊水中激素的水平与胎儿血液中的含量相关。17-OHP是类固醇激素合成途径中21-羟化酶促反应的前质,其可以透过胎膜渗入羊膜腔,因此当21-羟化酶缺陷时,胎儿血中的17-OHP浓度会显著升高,从而导致母亲羊水中的17-OHP浓度也相应地升高。1975年Fraser等人首次利用免疫学方法测定出羊水17-

相似临床特征,所以是高雄激素症对CAH相关特点的认识显得尤为重要。权威的研究机构对非新生儿CAH的诊疗已经达成了相关指南^[30],为以后CAH的诊疗工作带来了极大的帮助。对于典型CAH成年患者来说,采用氢化可的松或长效糖皮质激素治疗可以带来很好的效果,同时每年应进行一次身体检查和相关激素的测定,监测盐皮质激素和糖皮质激素的治疗效果。对于男性患者来说,典型CAH男性患者应自青春期开始定期筛查睾丸、肾上腺残余肿瘤,成年男性NCCAH患者不应该使用每日糖皮质激素替代治疗的方法。对于

女性 CAH 患者来说,应首先询问妇科病史,月经周期正常,则考虑有卵巢高雄激素血症,如不

互重叠导致基因突变,两个 CYP21 基因均位于 6 号染色体第八号细胞染色体 (human chromosome

6p21.31) 上,两个 CYP21 基因相距约 2.3 kb,其

序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21 基因

的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

基因,其序列高度相似,在基因组中,两个 CYP21

基因的排列顺序为 CYP21A2-CYP21B1,其中 CYP21A2

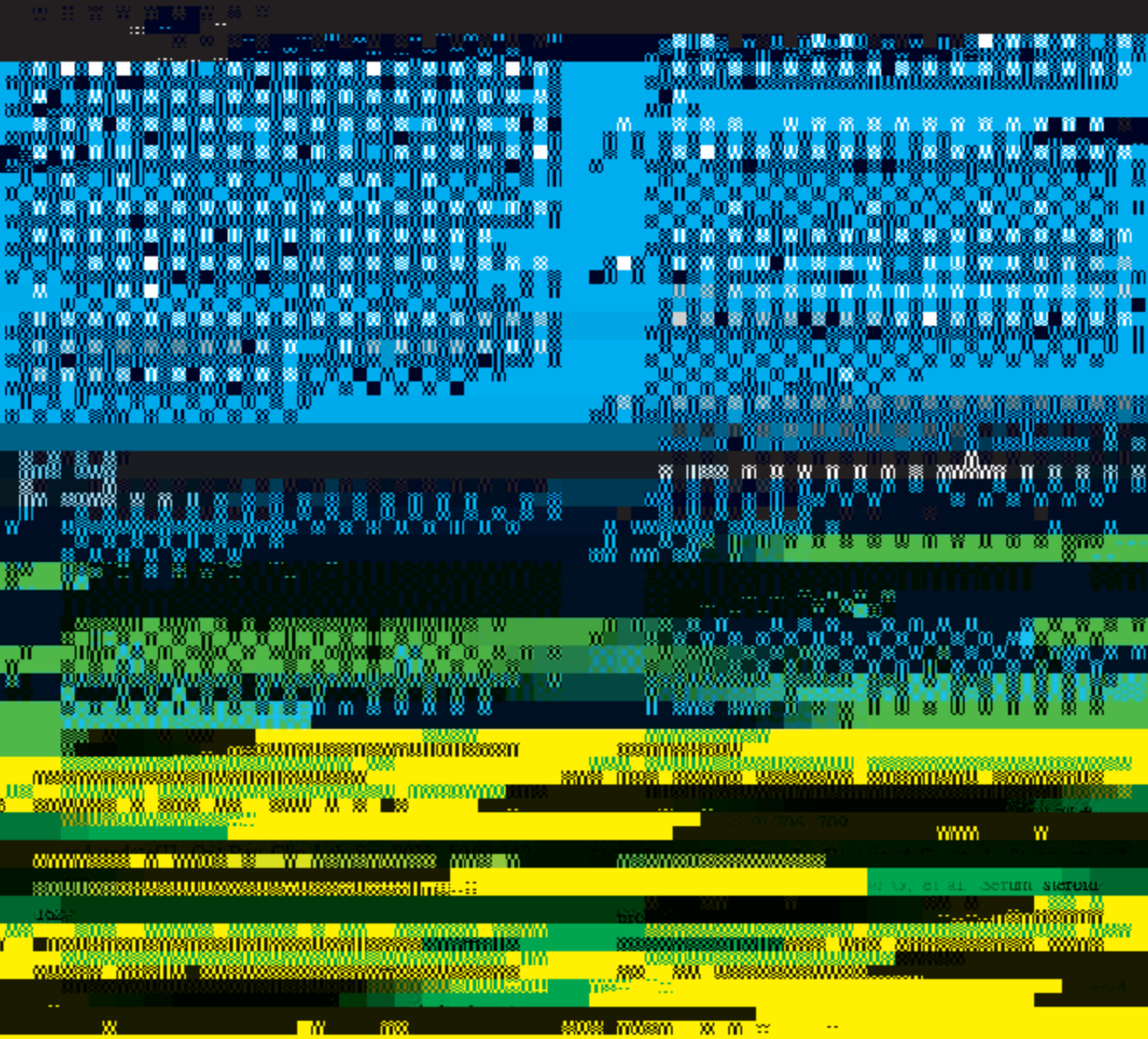
基因位于 6p21.31,而 CYP21B1 基因位于 6p21.32

产前诊断可以更好地防范新生儿 CAH 患者的出现,测定羊水 17-OHP 浓度作为产前诊断的方法已被普遍应用,但该方法涉及到半衰期短、需要专用设备 and 同位素污染等缺点,近年来逐渐被淘汰。针对非新生儿 CAH 患者的诊疗,随着相关类似疾病的鉴别方法越来越完善,同时伴随着诊疗指南的出现和相关诊断技术的不断更新,近年来已经相继开发出了新技术的试剂盒,其在检测精度和准确度方面都有了质的提升。国内在针对非新生儿 CAH 的

hyperplasia[J]. Arq Bras Endocrinol Metab, 2011,55(8): 632-637.

- [6] Falhammar H, Frisén L, Norby C, et al. Increased mortality in patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014,99(12):E2715-2721.
- [7] Nascimento ML, Cristiano AN, Campos TD, et al. Ten-year evaluation of a neonatal screening program for congenital adrenal hyperplasia[J]. Arq Bras Endocrinol Metabol, 2014,58(7):765-771.

Taylor SM, Inanil I, Laifi H et al. Diagnostic and prognostic value of the 17-OH progesterone test in the neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: a retrospective study of 10 years of experience in a tertiary care center[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011,93(10):3885-3890.



pro ling by isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry: comparison with current immunoassays and refer

[24] Luton D, Huel C, Vuillard E, et al. Assessment of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid:



Figure 1. Comparison of the results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

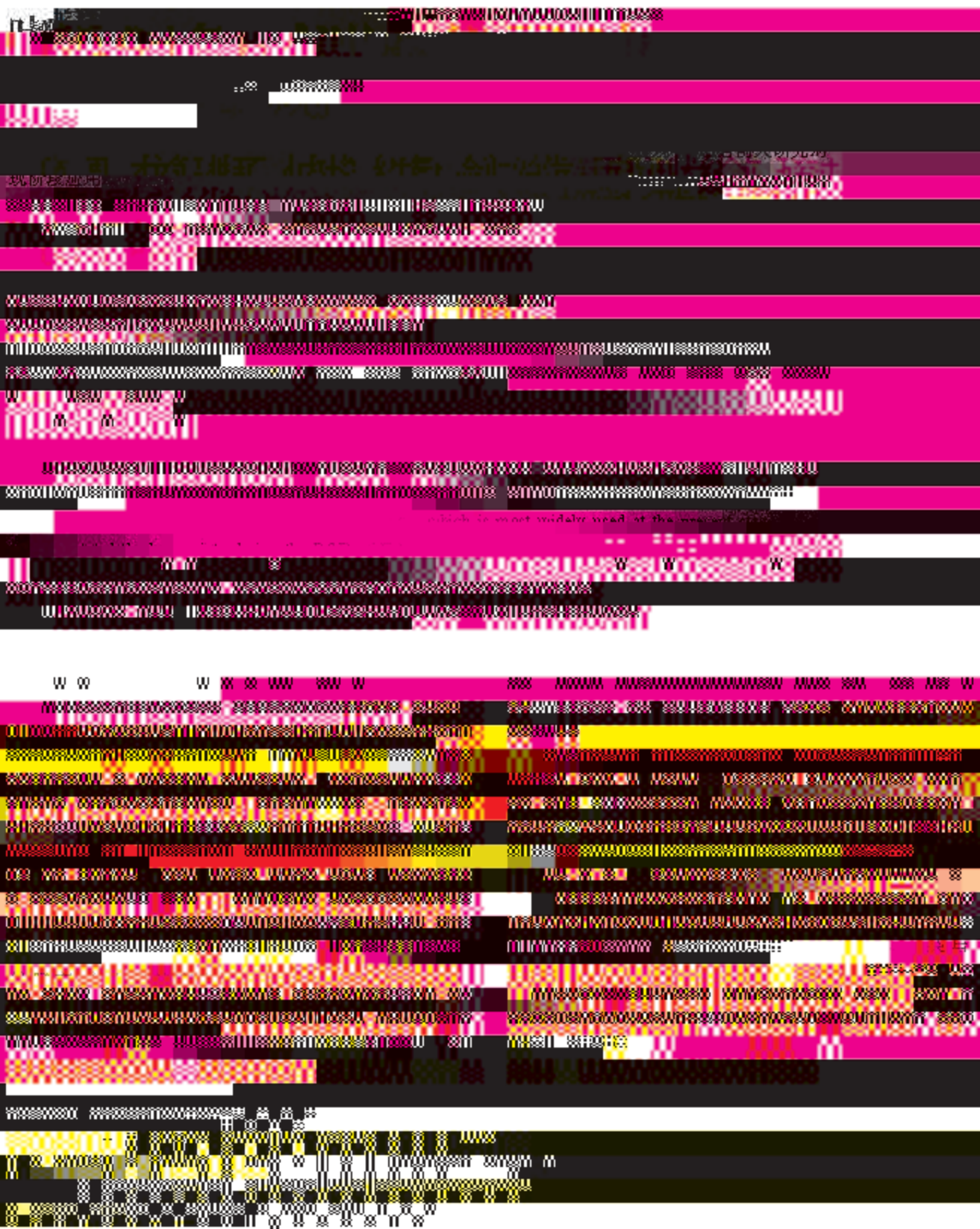
The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

The results of the isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry and the current immunoassays and refer

ence values for the concentration of thyroid hormones and androgens in amniotic fluid.

综述



叶酸和维生素 B₁₂ 重要临床意义的发现引发了学术界对其的广泛关注, 准确而高效的叶酸及 B₁₂ 检测手段也就显得极为重要。但由于叶酸和 B₁₂ 在人体内含量极低, 体外稳定性极差, 具有生物活性的相关化合物组成复杂等原因, 对其分析相当困难^[4], 直至今日, 对于叶酸和 B₁₂ 的检测标准依然未能够达成共识。

1 叶酸及维生素 B₁₂ 检测方法的发展及现状

经过半个多世纪的研究, 学者们根据检测对象的不同开发出了多种检测样品中叶酸或 B₁₂ 的方法, 如比色法、薄层层析法、气相色谱-质谱法、高效液相色谱法、微生物法和同位素放射免疫法等。一般测定原料叶酸或 B₁₂、纯叶酸或 B₁₂ 制品或药品制剂中的叶酸或 B₁₂ 质量分数常采用比色法; 而生物体、食品中叶酸的测定多采用微生物法、同位素放射免疫法或色谱法、色-质联用法以及最新的离子捕获法, 化学发光法和生物传感法。其中微生物分析法, 以其经典、准确可靠成为迄今国际

合, 最后通过碱性磷酸酶与蝶酸(叶酸的类似物)结合物对叶酸结合蛋白上游离结合位点的探查, 定量分析样品中叶酸的质量分数。该研究证实, 当离子捕获法测定血清或红细胞中的叶酸时, 其结果与同位素放射免疫法的结果具有良好的相关性。

高效液相色谱-质谱联用技术(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS) 于 1999 年最早报道应用于叶酸分析^[9], 该技术不仅能够快速、高效地分离叶酸化合物, 而且质谱仪的高灵敏度满足了低检测限的要求, 具有样品用量少、自动化程度高等优点, 无论对定性及定量分析都显示了巨大的优势。目前, 利用 HPLC-MS 联用方法检测叶酸化合物主要集中于对食品和临床样品, 并且都已显示出较好的应用前景, 已逐步成为较为权威的叶酸检测手段。

90 年代, 有学者相继提出用非放射性标记蛋白结合技术检测血液叶酸, 其中包括克隆酶供体免疫测定法 (cloned enzyme-donor immunoassay, CEDIA) ELISA、化学发光免疫实验法、化学发光

B₁₂的理化性质十分不稳定,暴露在空气中很容易受到光、氧气和金属离子的影响而失去活性。例如 Jansen EH, Beekhof PK^[2]对叶酸和 B₁₂ 研究发现部分叶酸活性结构在-20℃储存 4 天含量降低了 60%,而 B₁₂ 则至少在-70℃条件才能长期储存。其次,叶酸和 B₁₂ 在人体内具有生物活性的相关化合物组成复杂,而且含量极低,对试剂盒灵敏度和精密度有很高要求;关于叶酸和 FBP 亲和力的研究也持续了很长一段时期。再有,叶酸和 B₁₂ 本身分子质量太小,用于包被用的叶酸或 B₁₂ 的衍生物和 IF 抗体制备工艺复杂。

经过各界学者不断的研究,对叶酸和 B₁₂ 检测试剂盒的开发逐渐达成了一些共识:鉴于叶酸和 B₁₂ 的不稳定性,样本在采集、转移和储存过程中

结果进行比对,发现应用最广的几种检测试剂盒在检测结果上仍存在显著差异^[2]。在体外诊断行业飞速发展的今天,行业标准的建立意义重大,国际相关知名的标准实验室及组织机构也一直在致力于此方面的研究,如 ASCP 等。无论是以改良后的微生物测定法还是高效液相色谱-质谱联用法做参比,研究结果发现,各大厂商试剂盒的检测结果存在明显差异,这体现在检测结果与参比方法的比对以及回收实验的结果中^[7-10]。

上述学者或机构对这种检测结果的差异进行了调查和统计分析,发现造成这种差异的原因主要集中在以下几个方面:首先,溯源不同,各大厂家在试剂盒开发过程中均采用了不同的溯源途径,有的以 WHO 标准物质溯源,有的以改良的微生物测定法为参比,有的以上述生物测定法

表 1 不同品牌试剂盒检测结果对比 (n=100)

品牌	品牌	品牌	品牌	品牌	品牌	品牌	品牌	品牌	品牌
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100

注:品牌 1-10 为 A 品牌,品牌 11-20 为 B 品牌,品牌 21-30 为 C 品牌,品牌 31-40 为 D 品牌,品牌 41-50 为 E 品牌,品牌 51-60 为 F 品牌,品牌 61-70 为 G 品牌,品牌 71-80 为 H 品牌,品牌 81-90 为 I 品牌,品牌 91-100 为 J 品牌。

首先,需要明确全血叶酸和血清叶酸检测指标。众所周知,全血中的叶酸水平能够反映个体近

参考文献

[1] Blehaut H, M... Effect of lenses...



全球有 16.2 亿人贫血,而孕前或妊娠中的妇... 叶酸水平能够反映个体近... 血清叶酸水平... 叶酸水平能够反映个体近... 血清叶酸水平... 叶酸水平能够反映个体近... 血清叶酸水平...

叶酸水平能够反映个体近... 血清叶酸水平... 叶酸水平能够反映个体近... 血清叶酸水平... 叶酸水平能够反映个体近... 血清叶酸水平...

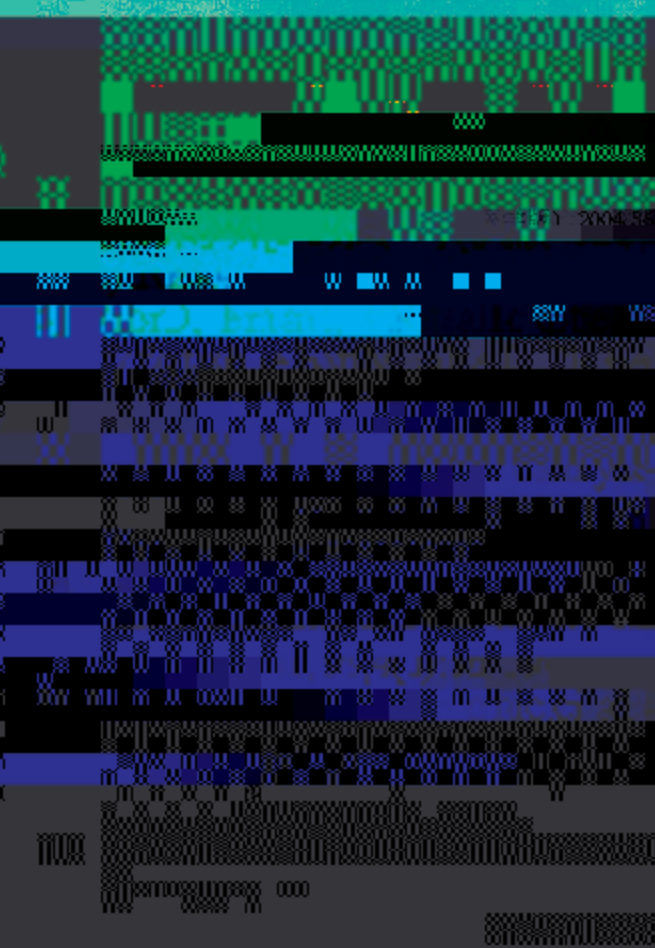
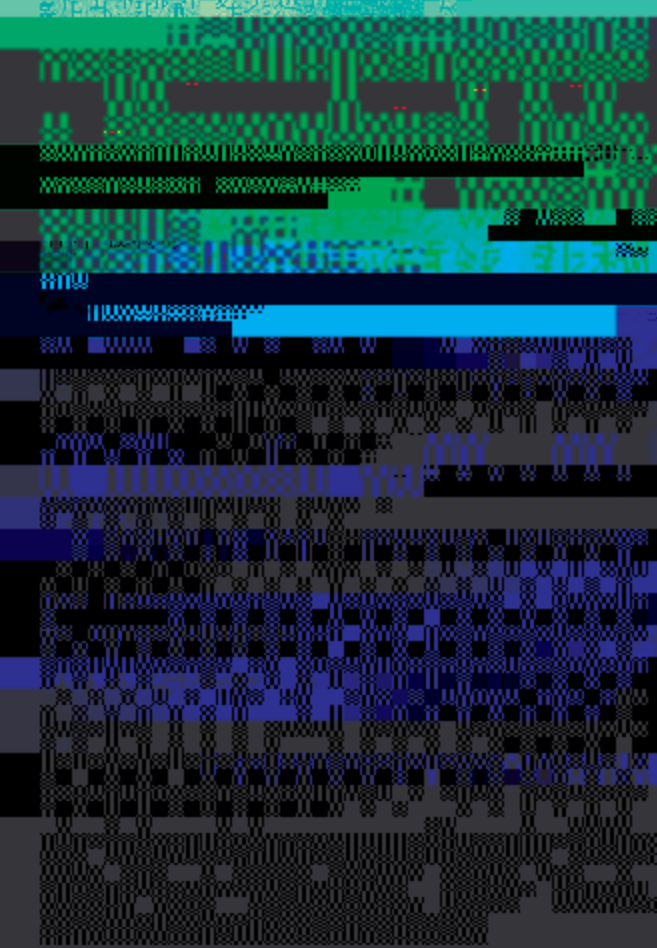


Figure 1: Comparison of folate levels in whole blood and serum. The figure shows two panels, (A) and (B), with various data points and error bars. Panel (A) shows higher values for whole blood folate compared to serum folate, while panel (B) shows lower values. The y-axis represents folate concentration, and the x-axis represents different groups or conditions.

Figure 1: Comparison of folate levels in whole blood and serum. The figure shows two panels, (A) and (B), with various data points and error bars. Panel (A) shows higher values for whole blood folate compared to serum folate, while panel (B) shows lower values. The y-axis represents folate concentration, and the x-axis represents different groups or conditions.

