

# 荧光免疫层析法测定尿液中 $\beta_2$ -微球蛋白的方法学评价

陈铿铿, 赖关朝, 陈念光, 张碧珠, 刘志芳

广东省职业病防治院职业医学检验科, 广东 广州 510300

**摘要:** **目的** 应用美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP10-A2 文件初步评价荧光免疫层析法测定尿液中  $\beta_2$ -微球蛋白( $\beta_2$ -MG)的多方面性能。 **方法** 按照 NCCLS 颁布的 EP10-A2 文件,按中、高、低、中、中、低、低、高、高、中的顺序连续测定各浓度样本 5 d。计算测定结果的偏差、总不精密度、截距、斜率、非线性、携带污染和漂移。 **结果** 低、中、高浓度  $\beta_2$ -MG 样本偏差分别为-1.1 和 4  $\mu\text{g/L}$ ;总不精密度分别为 4.12%、0.83%和 0.44%;非线性、携带污染、漂移差异均无统计学意义( $P>0.01$ )。 **结论** 荧光免疫层析法检测尿液中  $\beta_2$ -MG,准确度、精密度均较好,线性良好,携带污染率低,稳定性好,试剂性能可满足临床应用需求。

**关键词:**  $\beta_2$ -微球蛋白; 荧光免疫层析法; 即时检测

**中图分类号:** R446.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2017)07-0886-03 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2017.07.036

$\beta_2$ -微球蛋白( $\beta_2$ -microglobulin,  $\beta_2$ -MG)是由多种氨基酸残基组成的单链多肽低分子量蛋白质,健康人群尿液中  $\beta_2$ -MG 微乎其微,只有当肾小球滤过功能增加或肾小管重吸收功能降低时,尿液中  $\beta_2$ -MG 才会明显增加,因此测定尿液中  $\beta_2$ -MG 含量对肾损伤的早期发现具有重要意义<sup>[1-2]</sup>。目前检测  $\beta_2$ -MG 的方法有酶联免疫吸附法、免疫比浊法及化学发光法等,但酶联免疫吸附法耗时长、步骤多,后两种方法简单,却需要昂贵的仪器,这些因素制约了  $\beta_2$ -MG 检验工作的广泛开展<sup>[3-4]</sup>。本研究参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)颁布的《定量临床检验方法的初步评价:批准指南 EP10-A2》文件,采用荧光免疫层析法,在小型荧光免疫分析仪上检测尿  $\beta_2$ -MG 含量,对该方法的偏差、总不精密度、截距、斜率、非线性、携带污染和漂移进行分析,初步评价其是否适用于临床检验工作<sup>[5]</sup>。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器和试剂** 广州天宝颂原生物科技发展有限公司生产的荧光免疫分析仪 FIA-T-01 及与上述型号配套的试剂,批号:00320160115。

**1.2 分析样本** 采用上海太阳生物科技公司提供的定值质控样品。高值样本(批号为 615D07),靶值为 392  $\mu\text{g/L}$ ,将高值样本按 1:1 比例稀释成中值样本,靶值为 196  $\mu\text{g/L}$ ;将中值样本按 1:3 稀释成低值样本,靶值为 49  $\mu\text{g/L}$ 。

### 1.3 方法

**作者简介:**陈铿铿(1983-),女,广东广州人,硕士,主管技师,主要从事职业卫生危险因素和微生物检测工作。

**1.3.1 样本测定** 依照指南,每天按中、高、低、中、中、低、低、高、高、中的顺序测定各浓度样本,其中第 1 个中值作为测定起始用,不作统计,后 9 个数据中的任何一个不及格,都须弃掉该批全部数据,重新测定。共测定 5 d。

**1.3.2 结果的判断标准** 以标准品的靶值作为横坐标、实测值与靶值的差值为纵坐标,将每日结果标于图上,观察有无离群点和线性情况。计算偏差、总不精密度,对截距、斜率、非线性、携带污染、漂移作回归分析。设定靶值的 $\pm 5\%$ 为偏差允许范围,设定 5%为总不精密度的允许范围。

**1.4 统计学分析** 采用 Excel2007 进行数据处理,计算偏差、总不精密度、对截距、斜率、非线性、携带污染、漂移作回归分析,其校正回归值作  $t$  检验,当  $t>4.6$  或  $t<-4.6$  时, $P<0.01$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 绘图及目测初评**  $\beta_2$ -MG 测定结果目测无离群点,且实测值与靶值间线性良好。见图 1。

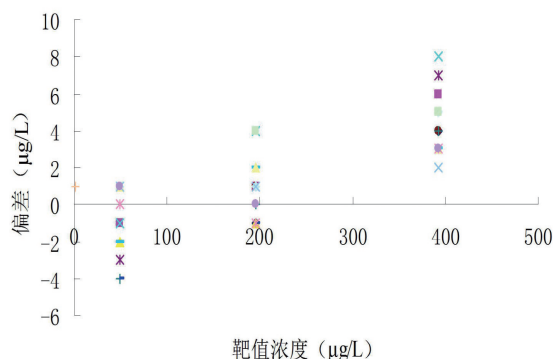


图 1  $\beta_2$ -MG 离群点及线性观察

2.2  $\beta_2$ -MG 偏差分析结果 以各浓度的测定均值和法测定尿液中  $\beta_2$ -MG 的偏差在可接受范围内。设定值间的差异来评价偏差,结果显示荧光免疫层析见表 1。

表 1  $\beta_2$ -MG 偏差分析结果

天数	低值		中值		高值	
	批内标准差	均值	批内标准差	均值	批内标准差	均值
1	1.53	48	1.15	196	1.53	396
2	2.00	48	1.73	198	2.08	398
3	1.15	46	1.53	196	0.58	395
4	0.00	50	1.53	198	1.15	396
5	0.58	50	1.00	196	0.58	395
总均值(Y)		48		197		396
靶值(C)		49		196		392
偏差 D=Y-C		-1		1		4
允许偏差		±2.5		±9.8		±19.8
拒绝或接受		接受		接受		接受

表 2  $\beta_2$ -MG 不精密度分析结果

项目	低值	中值	高值
混合批内方差(R)*	1.53	1.80	1.67
每日均值方差(S)#	2.94	1.48	1.92
校正的日间方差(T)T=S-R/3	2.43	0.88	1.37
总不精密度方差(U)U=R+T	3.97	2.68	3.03
总不精密度标准差(V)V=U/2	1.99	1.64	1.74
总均值(W)	48.33	196.87	396.20
总不精密度(CV%)CV%=V/W*100%	4.12	0.83	0.44
允许的总不精密度(CV%)	5	5	5
接受或拒绝	接受	接受	接受

注：\* 表示因每天测定次数相同,故取各浓度所有可接受批次的批内方差均值；# 表示校正的日间方差值小于零时,以零计。

表 3 第 1 d 测定结果多重回归分析表(第 2~5 d 分析表略)

次序	结果	S 因子	乘积*	C 因子	乘积#	N 因子	乘积 <sup>Δ</sup>	D 因子	乘积 <sup>▲</sup>
1	396	139	55 044	26	10 296	87	34 452	-52	-20 592
2	50	-96	-4 800	130	6 500	96	4 800	-34	-1 700
3	195	11	2 145	-102	-19 890	-237	-46 215	-22	-4 290
4	197	8	1 576	8	1 576	-234	-46 098	-16	-3 152
5	48	-117	-5 616	-4	-192	117	5 616	8	384
6	47	-126	-5 922	-126	-5 922	126	5 922	26	1 222
7	398	100	39 800	-126	-50 148	126	50 148	26	10 348
8	395	100	39 500	100	39 500	126	49 770	26	10 270
9	195	-19	-3 705	94	18 330	-207	-40 365	38	7 410
		斜率	174.074	携带污染	0.074	非线性度	26.593	线性/漂移度	-0.147

注:S(Slope 斜率)因子、C(Carryover 携带污染)因子、N(Nonlinearity 非线性度)因子、D(Drift 线性/漂移度)因子均由 WS/T 228-2002 提供的固定因子；\*、#、<sup>Δ</sup>、<sup>▲</sup>分别为测定结果与 S 因子、C 因子、N 因子、D 因子的乘积；斜率等于乘积\*之和除以 678；携带污染等于乘积#之和除以 678；非线性度等于乘积<sup>Δ</sup>之和除以 678；线性/漂移度等于乘积<sup>▲</sup>之和除以 678；678 为固定因子。

表 4  $\beta_2$ -MG 多元回归分析汇总表

天次		截距	斜率	携带污染	非线性	漂移
1	数值	-20.90	1.18	0.042	0.0012	-0.15
	t	-9.55	18.10	0.016	0.45	-0.17
2	数值	-20.91	1.19	-0.69	0.0012	-0.24
	t	-10.11	19.28	-0.27	0.45	-0.29
3	数值	-22.32	1.19	-0.039	0.0011	0.14
	t	-11.10	19.78	-0.016	0.45	0.17
4	数值	-17.85	1.18	-0.070	0.0011	-0.091
	t	-8.70	19.21	-0.027	0.45	-0.11
5	数值	-18.36	1.17	-0.11	0.0012	0.056

续表 4

天次		截距	斜率	携带污染	非线性	漂移
t		-8.56	18.30	-0.042	0.46	0.065
	总均值	-20.07	1.18	-0.17	0.0012	-0.057
t		-9.60	18.93	-0.068	0.45	-0.066

注：截距、斜率、携带污染 3 个参数不是直接由表 3 获得,而是通过回归分析得到的校正值；当 t>4.6 或 t<-4.6 时,t 检验差异有统计学意义(P<0.01)。

### 3 讨论

尿  $\beta_2$ -MG 是反映肾近曲小管损伤早期诊断指标<sup>[6-7]</sup>, 荧光免疫层析法是利用荧光免疫层析技术, 采用双抗体夹心法原理进行检测。层析过程中, 样本中  $\beta_2$ -MG 与荧光标记的  $\beta_2$ -MG 单克隆抗体反应形成的复合物移动至检测区域, 被硝酸纤维素膜上包被的  $\beta_2$ -MG 单克隆抗体捕获并形成复合物沉积在 T 区。在激发光源作用下, 荧光物质发射特定波长的荧光信号, 荧光免疫分析仪俘获荧光信号, 并转化为定量数值, 计算出样本中  $\beta_2$ -MG 的浓度。本研究参照 EP10-A2 文件对荧光免疫分析仪 FIA-T-01 及与上述型号配套的试剂进行了初步评估, 探讨其临床应用价值。偏差评价结果显示低、中、高浓度样本的绝对偏差均在允许偏差范围之内; 总不精密度评价结果显示低、中、高浓度样本的总不精密度均低于最大允许总不精密度; 多元回归总结分析结果显示携带污染、非线性和漂移差异均无统计学意义 ( $P>0.01$ )。

综上所述, 荧光免疫层析法检测尿液中  $\beta_2$ -MG, 准确度、精密度、线性良好, 携带污染率低, 稳定性好, 试剂性能可满足临床应用需求。但 EP10-A2 评价方法的结果仅建立在初步评价的基础上, 因此应参考 NCCLS 的 EP5、EP6、EP7 及 EP9 等文件进一步对试剂的

空白吸光度及变化率、线性范围、检测限、干扰试验等性能作进一步评价<sup>[8]</sup>。

### 参考文献

- [1] 邹存国, 尚琪, 张文丽. 血、尿  $\beta_2$ -微球蛋白水平与肾脏损伤[J]. 卫生研究, 2011, 40(6): 812-814.
- [2] 赵双玉, 黄健林, 张震宇, 等. 尿  $\beta_2$ -微球蛋白与尿肌酐比值诊断早期肾功能损伤的临床价值[J]. 实用临床医学, 2015, 16(1): 12-14.
- [3] 陈燕敏, 马建波. 纳米微球增强免疫比浊法测定  $\beta_2$ -微球蛋白方法学评价及临床意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(9): 1274-1276.
- [4] 吕玉江, 杨晓娟. 免疫增强比浊法测定  $\beta_2$ -微球蛋白的研究[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(21): 2377-2379.
- [5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods [S]. EP10-A2, NCCLS, 2002.
- [6] Micha, Kokot G, Biolik D, et al. Endothelium injury and inflammatory state during abdominal aortic aneurysm surgery: scrutinizing the very early and minute injurious effects using endothelial markers a pilot study [J]. Arch Med Sci, 2013, 9(3): 479-486.
- [7] 李颖. 血清胱抑素 C、 $\beta_2$  微球蛋白检测在肾功能不同损害期临床诊断中的应用[J]. 中国初级卫生保健, 2014, 28(3): 116-117.
- [8] 张葵. 定量检测系统方法学性能验证实验的基本方法[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(5): 321-323.

收稿日期: 2017-02-14

(接 881 页)

组织排出, 孕妇血小板活化状态和高凝状况逐渐缓解, 血管内皮损伤得到改善, 血栓倾向及血栓前状态也随之逐渐恢复。

综上所述, 随着子痫前期病情的加重, 子痫前期患者全血中 GP II b/III a 表达水平及血浆 D-二聚体含量随之增高, 联合检测全血中 GP II b/III a 水平和血浆 D-二聚体含量, 可作为重要的预测指标用于诊断并监测子痫前期患者病情变化, 有利于临床对可能发生病情变化的患者尽早制定治疗干预措施, 改善患者预后。

### 参考文献

- [1] 廖琪, 马晓艳, 崔满华, 等. 血小板膜糖蛋白 GP II b/III a 和血浆纤维蛋白原监测子痫前期及子痫的临床价值[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2009, 25(3): 214-216.
- [2] 廖琪, 马晓艳, 刘超, 等. 痫前期及子痫患者 GP II b/III a 与 PLT 关系及临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(22): 3163-3165.
- [3] 郭素玲. 妊娠高血压疾病患者血浆 D-二聚体和纤维蛋白原关系的研究[J]. 河南科技大学学报(医学版), 2013, 31(2): 129.
- [4] 廖丹. D-二聚体凝血指标血小板参数检测对妊娠高血压疾病的应用价值分析[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(4): 621-624.
- [5] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 64.
- [6] 鹿玉英. 早发型重度子痫前期期待治疗对妊娠结局的影响分析[J]. 实用预防医学, 2011, 18(6): 1070-1071.

- [7] 丁华, 黄丽萍, 刘和录, 等. 子痫前期患者 IGF-1 水平与围产儿结局的相关性研究[J]. 实用预防医学, 2010, 17(4): 654-656.
- [8] Shen WZ, Ding QL, Jin PP, et al. A novel Pro126His beta propeller mutation in integrin alphaIIb causes Glanzmann thrombasthenia by impairing progression of pro-alphaIIb beta3 from endoplasmic reticulum to Golgi [J]. Blood Cells Mol Dis, 2009, 42(1): 44-50.
- [9] Holthe MR, Staff AC, Berge LN, et al. Different Levels of platelet activation in preeclamptic, normotensive pregnant, and nonpregnant women [J]. Am J Obstet Gynecol, 2004, 190(4): 1128-1134.
- [10] Salomon O, Katz BZ, Dardik R, et al. The relationship between levels of circulating microparticles, complications of pregnancy and resistance of blood flow in the feto-maternal circulation [J]. Thromb Res, 2007, 199(Suppl 1): 114.
- [11] 赵华, 王莉钦, 陈益明. 重度子痫前期病人 D-二聚体水平与妊娠结局的相关性研究[J]. 中国农村卫生事业管理, 2012, 32(6): 632-633.
- [12] 马小娟, 沐朝阳, 魏新亭. 子痫前期患者血清 CRP 及 D-二聚体变化与妊娠结局的相关性研究[J]. 宁夏医学杂志, 2014, 36(10): 931-933.
- [13] 陈大宇, 刘艳萍. 妊娠期高血压 D-二聚体、T 淋巴细胞亚群与 C 反应蛋白的相关性[J]. 广东医学, 2011, 32(5): 586-588.
- [14] 陆竹梅, 邓娜, 邱小菊. 子痫前期患者血清 hs-CRP 和 D-二聚体水平与不良妊娠结局的分析[J]. 华夏医学, 2013, 26(6): 1080-1083.

收稿日期: 2017-01-19