

改良试剂瓶提高循环酶法总胆汁酸试剂稳定性的性能评价

贾 建, 张伟龙, 肖 翔, 潘理想, 张达秀(广东省东莞市塘厦医院检验科 523721)

【摘要】 目的 对改良试剂瓶提高总胆汁酸试剂开瓶后稳定性的性能评价。方法 在全自动生化分析仪上分别使用普通试剂瓶和改良试剂瓶贮存循环酶法总胆汁酸试剂, 观察高、中值混合血清以及试剂空白检测结果的日间变异 CV 及趋势性变化, 并对两种试剂瓶的检测结果进行差异显著性 t 检验。**结果** (1) 改良试剂瓶测定结果趋势性变化较普通试剂瓶明显减缓。(2) 普通试剂瓶测定值在监测期前后累计偏差分别为中值 -20.37% 和高值 -22.09% ; 而改良试剂瓶测定值在监测期前后累计偏差分别为中值 3.77% 和高值 -1.16% 。(3) 普通生化试剂瓶检测结果日间变异 CV 分别为中值混合血清 9.27% 和高值混合血清 9.32% ; 长效试剂瓶分别为中值混合血清 3.38% 和高值混合血清 2.03% 。(4) 改良试剂瓶贮存 TBA 试剂的空白值下降幅度较普通试剂瓶明显减缓。(5) 两种试剂瓶在监测期内的测定结果经差异显著性配对 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=4.889, P<0.01$)。**结论** 改良试剂瓶对于减缓循环酶法总胆汁酸试剂衰变的性能良好, 有利于延长试剂效期, 且可显著降低测定结果的日间变异。

【关键词】 改良试剂瓶; 总胆汁酸; 试剂; 衰变; 效期

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.10.021 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)10-1195-02

Performance evaluation of stability of the total bile acid reagent with improved reagent bottles JIA Jian, ZHANG Wei-long, XIAO Xiang, PAN Li-xiang, ZHANG Da-xiu (Department of Clinical Laboratory, Tangxia people's Hospital, Dongguan, Guangdong 523721, China)

【Abstract】 **Objective** To evaluate the stability of the total bile acid reagent after opening the improved bottles. **Methods** We analyzed the total bile acid reagents in automatic biochemistry respectively by using the common reagent bottles and the improved reagent bottles. Observe daytime variation of CV and trend changes of high, medium mixed complex-value serum and reagent blank test results. Then t test was applied. **Results** (1) The change trend of the improved reagent bottles was significantly slower than that of the common reagent bottles, (2) The total deviations of common reagent bottles before and after monitoring were -20.37% and -22.09% respectively. Total deviations of the improved reagent bottles were 3.77% and -1.16% respectively, (3) The daytime variations of the common reagent bottles in complex-value were 9.27% and 9.32% respectively; the improved reagent bottles were 3.38% and 2.03% respectively; (4) The reagent blank with improved reagent bottles decline significantly slower than common reagent bottles; (5) The measured result of t test of the two kinds reagent bottles in the monitoring period was $t=4.889, P<0.01$, the result there was significantly different. **Conclusion** The improved reagent bottles have good performance to slow down the decay of total bile acid reagent, and it's suitable for extending the period of reagents' validity. It can significantly reduce daytime variation.

【Key words】 improved reagent bottles; the total bile acid reagent; decay; validity; extend

生化试剂开瓶后的衰变现象是临床化学检验工作中的常见问题, 试剂的衰变可导致检测结果出现趋势性变化, 当衰变程度超过试剂厂家设定的范围时则判定为失效, 因此试剂衰变成为影响试剂效期和检测结果日间变异的重要因素。未开封的生化试剂效期通常为 1~2 年, 而开瓶载入仪器后效期则往往只有数天至 1 个月, 甚至更短^[1]。主要原因与试剂开瓶后长期接触流动的空气发生挥发、氧化(或还原)、潮解、析晶或细菌污染等有关, 使试剂有效成分逐渐降解^[2-5]。这种自然衰变过程通常不可阻断而只能通过不同手段进行延缓, 对于试剂的轻度衰变实验室常采用校准的方式纠正(以实验限性来代偿), 而对于衰变严重的试剂则实验室只能通过提高试剂的更新频率来解决, 或以降低质量控制标准为代价。因此使用某些衰变较快或周转较慢(尤其是样本量较少的特检项目)的生化试剂, 会对实验室的试剂、校准物、质控物造成较大浪费, 甚至影响检验质量。如何延缓试剂开瓶后的衰变过程, 有效延长试剂效期, 是临床实验室检验质量控制和检验成本控制最关注的问题之一。本实验室尝试应用自主设计的改良生化试剂瓶(命名为

“长效生化试剂瓶”)来解决此问题, 本实验即改良观察试剂瓶在延长循环酶法总胆汁酸(TBA)试剂开瓶后有效期, 降低因试剂衰变引起的检测结果日间变异等方面的性能, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 日本 OLYMPUS AU-640 全自动生化分析仪。

1.2 试剂瓶

1.2.1 普通试剂瓶 商品试剂盒内原配试剂瓶, 适用于各种全自动生化分析仪机型。

1.2.2 改良试剂瓶 由本实验室自主设计, 瓶体内部具有特殊结构的试剂瓶, 以聚丙烯塑料为原料, 采用注塑及中空吹塑技术制造。(1)主要结构: 从瓶口垂直向瓶体内延伸成筒状体, 所述筒状体内径 11.5 mm 左右, 其下缘接近瓶底下缘, 筒状体壁有透气孔, 该结构中筒状体可将瓶内试剂瓶在空气中的暴露面减小至直径为 11 mm 左右的圆形面积, 与普通试剂瓶内试剂在空气中的暴露面相比大幅度减少, 从而延缓试剂衰变的过程; 筒状体壁上的小孔可保持瓶内的空腔中的气压与瓶外大气

压相等,使筒状体内的液面与瓶内的液面保持平衡,从而不影响仪器对瓶内液体量的探测功能;该试剂瓶仅改变瓶体结构,对试剂配方成分无影响。(2)功能:该设计方案通过减少试剂与可流动性空气接触的方法达到延缓试剂衰变的目的,对延缓各种生化试剂开盖后的衰变效果显著,可有效提高试剂开瓶后的稳定性,延长试剂效期,显著降低测定结果日间变异 CV,对于实验室成本控制和质量控制均具有重要意义。

1.2.3 创新性 该设计现已命名为“长效生化试剂瓶”,并申报专利(专利号 200920086117.0)。通过省医学情报研究所(国家一级查新咨询单位)查新检索,类似研究目前尚未有相同文献及专利报道[详见《长效生化试剂瓶在全自动生化分析仪上的应用评价研究》科技查新报告(编号 2009-01-127)]。

1.3 试剂 北京九强 TBA 检测试剂。

1.4 校准物 桂林朗道诊断用品公司 CA2350 人血清基质中值复合校准品。

1.5 样本

1.5.1 中值混合血清 收集本院检验中心健康体检者新鲜血清 20 份,制备中值混合血清 10 mL,分装后密封置于 -20 °C 避光保存^[1]。

1.5.2 高值混合血清 收集本院各病区急性重症肝炎或重度胆汁淤积患者新鲜血清 20 份,制备高值混合血清 10 mL,分装后密封置于 -20 °C 避光保存^[1]。

1.6 方法

1.6.1 项目设置 在 OLYMPUS AU-640 全自动生化分析仪设置普通试剂瓶(TBA1)、改良试剂瓶(TBA2)2 个测定通道,分别使用普通试剂瓶和改良试剂瓶对应项目装入等量的同批号 TBA 试剂,并严格按试剂说明书设定参数,TBA1、TBA2 2 个测定通道设置完全相同。

1.6.2 校准 使用朗道 CA2350 复合校准品同时对 TBA1、TBA2 进行项目校准。

1.6.3 检测 分别检测中、高值混合血清的 TBA1 值和 TBA2 值,每周一、四各检测 1 次,其间不再进行项目校准,以便观察试剂自然衰变状态;分别检测 TBA1 和 TBA2 2 个实验项目的试剂空白值。

1.7 统计学方法 分别统计使用普通瓶和长效瓶日间测定结果的均值(\bar{x})、标准差(s)和 CV;根据测定结果及试剂空白结果分别绘制趋势变化图;对试验期内两种试剂瓶测定结果进行差异显著性配对 t 检验。

2 结果

2.1 混合 TBA 监测结果 见表 1。实验共监测 40 d(每隔 3 d 测定一次,共 14 次)。

表 1 两种试剂瓶监测混合血清 TBA 结果 (n=14)

项目	TBA1		TBA2	
	中值	高值	中值	高值
测定结果($\mu\text{mol/L}$)	4.84±0.44	36.6±3.41	5.64±0.19	43.2±0.87
累计偏差(%)	-20.37	-22.09	3.77	-1.16
CV(%)	9.27	9.32	3.38	2.03

2.2 根据测定结果绘制变化趋势图。

2.2.1 改良试剂瓶测定结果趋势性变化较普通试剂瓶明显减缓,见图 1。

2.2.2 普通试剂瓶测定值在监测期前后累计偏差分别为中值 -20.37% 和高值 -22.09%;而改良试剂瓶测定值在监测期前后累计偏差分别为中值 3.77% 和高值 -1.16%。

2.2.3 两种试剂瓶对于同份样本检测结果的差值随时间推移呈明显放大趋势,见图 2。

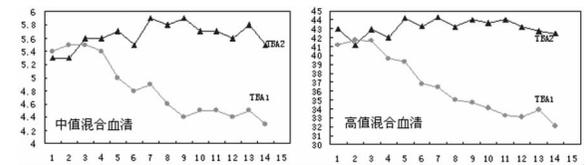


图 1 两种不同试剂瓶中 TBA 试剂的检测结果衰变趋势图

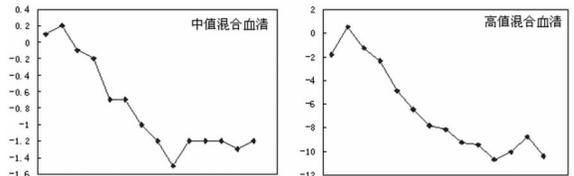


图 2 两种试剂瓶对于同份样本 TBA1、TBA2 检测结果的差值变化趋势图

2.2.4 改良试剂瓶贮存 TBA 试剂的空白值下降幅度较普通试剂瓶减缓,见图 3。

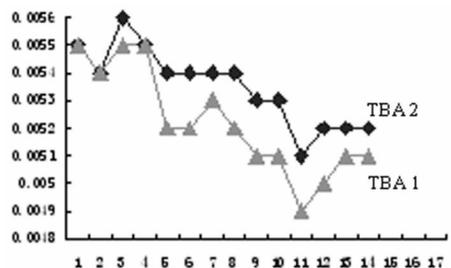


图 3 两种试剂瓶贮存 TBA 试剂的空白值变化趋势图

2.3 差异显著性 t 检验 两种试剂瓶在监测期内的测定结果经差异显著性配对 t 检验, $t=4.889, t_{0.01}=2.160$, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。

3 讨论

如何有效延缓试剂开瓶后的衰变过程,提高试剂开瓶后的稳定性,一直是检验工作者和商品试剂厂家共同关注的问题。目前有通过改良试剂组分或在试剂中添加稳定剂来提高试剂稳定性的报道^[6-10],已有部分实验项目取得较为显著的效果。但此类解决方案多具有项目局限性,且试剂成分改变是否会对检测的性能造成影响尚需进行大量评价实验来证实。目前,国内外亦有采用对试剂瓶加盖(放射状口)来减少试剂与流动空气接触的先例,但试剂盖不可避免接触试剂针造成不同程度的交叉污染或影响试剂针的液面感应功能,该方法是否适用于所有自动生化分析仪机型也有待于进一步探讨。亦有通过缩小试剂瓶口直径来降低试剂衰变的特殊设计,例如贝克曼自动生化分析仪配备的专用试剂瓶,但对于稳定性差或使用率低的特殊项目试剂仍无显著效果。本实验室自主设计的改良试剂瓶通过对瓶体结构进行改良,大大降低了试剂与流动空气的接触,对试剂针无接触、对试剂本身成分也无任何改变。类似通过改变试剂瓶内部结构延缓试剂衰变、减小检测结果日间变异目前尚无文献报道。但该结构设计尚需通过化学比色类、酶类、免疫比浊类等不同类型生化试剂来观察其性能。本文报道改良试剂瓶在 TBA 检测中的应用可为酶类试剂性能的评价提供参考依据。循环酶法测定 TBA 是较为典型的酶类反应项目之一,也是临床生化实验室开展较为广泛的生化项目,试剂成分中的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸稳定性较差,(下转第 1198 页)

其特异性为 99.5%，灵敏度 73.6%，阳性预测值为 97.6%，阴性预测值 99.6%。

表 1 3 种方法的检测结果

方法	阳性	阴性	合计	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	灵敏度 (%)	特异性 (%)
ELISA	63	223	286	96.8	99.1	95.5*	99.1
PCR	65	221	286	96.9	98.2	97.0*	98.2
层析法	41	245	286	97.6	99.6	73.6	99.5

注：与层析法比较，* $P < 0.05$ 。

3 讨论

CT 是常见的一种性传播疾病病原体，CT 是引起非淋菌性尿道炎的主要病原体，非淋菌性尿道炎的 40%~50% 是由 CT 感染引起的。感染 CT 后妇女最常见的是引起化脓性宫颈炎，脓性白带增多，可伴有外阴瘙痒。如果引起尿道炎时，约一半患者出现尿急、尿频和排尿困难，与淋病性尿道炎不同的是，CT 引起的尿道炎无尿痛症状，或尿痛很轻微，可有少量的尿道分泌物。如果巴氏腺被感染，还能引起巴氏腺炎；女性患者多数症状很轻，或者没有自觉症状，因此常被忽略，容易造成本病的传播^[1-2]。选择一种高效快速、特异、敏感的检测方法有着重要的临床意义。

ELISA 法检测 CT 抗原有着较高的特异性和灵敏度，灵敏度为 95.5%，特异性为 99.1%，有仪器的自动化，与 PCR 的结果一致性达到 96.9%，可为临床提供较为准确的结果。细胞培养虽然被国际公认为是检测衣原体的“金标准”，方法通过碘染色镜检包涵体或用荧光标记单克隆抗体检测组织中的包涵体，特异性近似于 100%，但耗时长，且不同实验室培养法的敏感性也不相同(50%~90%)，培养时部分样本衣原体死亡造成培养的假阴性，不能满足临床的需求。PCR 法凭高灵敏度成为检测 CT 的一项新技术，但需要有昂贵的试剂和仪器，要专用的分子生物实验室，实验条件要求较高，比免疫分析法容易出现假阳性。免疫层析法快速，操作简单，有较高的特异性但

灵敏度低，容易漏检^[3-7]。ELISA 试剂具有简便(自动化)快速、结果易判断，适宜大量的标本检测，该方法也可手工操作，也能在基层医院推广使用^[8]。

参考文献

- [1] 王千秋. 重视生殖道沙眼衣原体感染的防治[J]. 中华皮肤科杂志, 2007, 40(5): 257-259.
- [2] Sarah P, Simon B, Hannah K, et al. Mapping the global distribution of trachoma[J]. Bull World Health Organ, 2005, 83: 913-919.
- [3] Yin YP, Peeling RW, Chen XS, et al. Clinic-based evaluation of Clearview Chlamydia Mf for detection of Chlamydia trachomatis in vaginal and cervical specimens from women at high risk in China [J]. Sex Transm Infect, 2006, 82(5): 33-37.
- [4] 刘开扬, 李俊平, 刘进军, 等. Gap-LCR-ELISA 法与 PCR-反向杂法对沙眼衣原体的检测对比研究[J]. 中华检验杂志, 2007, 30(7): 820.
- [5] 李启宁, 夏理评. 金标快速免疫试剂盒检测沙眼衣原体的性能评估[J]. 上海检验杂志, 2003, 18(1): 31-33.
- [6] Tong CY, Donnelly C, Hood N. Lowering the cut off value of an automated chlamydia enzyme immunoassay and confirmation by PCR and direct immunofluorescent antibody test[J]. J Clin Pathol, 1997, 50(8): 681-685.
- [7] 李燕娃, 江海燕, 黄西元. 4 089 例性病门诊沙眼衣原体检测结果分析[J]. 岭南皮肤性病科杂志, 2008, 15(1): 9-11.
- [8] 郑和平, 李美玲, 黄进梅, 等. Microtrak II EIAI 法检测泌尿生殖道沙眼衣原体感染[J]. 岭南皮肤性病科杂志, 2004, 11(3): 207-209.

(收稿日期: 2011-01-23)

(上接第 1196 页)

易降解该试剂开盖后的稳定期，稳定期通常只有 1 个月左右^[1]。TBA 与常规化学检测项目相比其试剂使用率相对较低，并且该项目试剂较为昂贵，因此多数实验室(尤其是基层医院实验室)对于该项目校准周期设定较长。本实验中改良试剂瓶显著降低了不校准状态下检测结果的日间变异 CV 及结果累计偏差，尤其在开盖 15 d 后效果更为明显。实验结果证实，在自动化生化分析仪中应用改良试剂瓶对延长 TBA 试剂效期、减小测定结果日间变异有显著效果，本实验同时为改良试剂瓶在其他类型检测项目中的应用提供了参考依据。

改良试剂瓶对于减缓 TBA 试剂衰变的性能良好，有利于提高试剂开瓶后的稳定性、延长试剂效期；改良试剂瓶对于降低因试剂衰变导致检测结果的日间变异 CV 效果显著，有利于 TBA 检测精密度的进一步提高。

参考文献

- [1] 韩志钧. 临床化学常用项目自动分析法[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2005: 998-1000.
- [2] 刘洪范. 化学实验基础[M]. 济南: 山东科学技术出版社,

1983: 217-225.

- [3] 孙宏伟, 陈君华. 化学试剂变质原因及对策[J]. 安徽农业技术学院学报, 2000, 14(3): 60-70.
- [4] 周能, 赵书林, 谢祖芳, 等. 重氮氨基类试剂在分析化学中的研究进展[J]. 玉林师范学院学报: 自然科学, 2002, 3(25): 51-52.
- [5] 王箴. 化工辞典[M]. 北京: 化学工业出版社, 1979: 1363.
- [6] 胡望平, 周长邵, 王丹, 等. 肌酐试剂稳定性的改进[J]. 现代检验医学杂志, 2003, 18(2): 28-29.
- [7] 肖少林, 魏曼梅, 胡望平, 等. 改进肌酐试剂稳定性的方法[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(8): 759-760.
- [8] 袁水斌. 稳定型总蛋白(TP)试剂的研制[J]. 江西医学检验, 2006, 4(2): 124-126.
- [9] 张纯. PVC(聚氯乙烯)袋装呋喃西林溶液的稳定性试验[J]. 中国现代临床医学, 2006, 5(5): 19-21.
- [10] 曾平. 全自动生化分析仪试剂添加方法对试验结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(8): 759-760.

(收稿日期: 2010-12-10)