ApoE$^{-/-}$小鼠的实验研究结果直接证明动脉粥样硬化形成时半胱氨酸蛋白酶/蛋白酶抑制剂失衡。通过对Cys C基因的研究发现,血浆Cys C浓度在突变单倍体携带者中明显较低,而在主单倍体纯合子个体中水平是较高的,且通过对急性心梗患者进行冠脉造影,发现突变单倍体患者的冠状动脉狭窄程度较高[6]。

另外,本研究入选冠心病组的病例大都是不稳定型心绞痛和急性心梗,可能存在着不稳定斑块。斑块不稳定时,随着炎性斑块蛋白的溶解,抗蛋白溶解因子Cys C被消耗,这个事件先于斑块破裂本身,且能触发冠状动脉粥样斑块的破裂[7]。此外,当斑块不稳定时,斑块周围的诱导Cys C表达的细胞因子(如β_1型转化生长因子)表达低下,从而导致血清Cys C水平降低[8]。因此,冠心病组特别是冠脉狭窄中度组及重度组血清Cys C水平较低可能与粥样斑块的不稳定也有一定关系。

综上所述,Cys C应该被考虑作为一个新的冠心病危险因子。但其血清水平究竟是与冠脉狭窄程度关系密切,还是与斑块不稳定关系密切,需要进一步探讨。

参考文献:

[1] Singh D, Whooley M A, Ix J H, *et al*. Association of cystatin C and estimated GFR with inflammatory biomarkers: the Heart and Soul Study [J]. Nephrol Dial Transplant, 2007, 22(4): 1087-1092.

[2] Pinon P, Kaski J C. Inflammation, atherosclerosis and cardiovascular disease risk: PAPP-A, Lp-PLA2 and cystatin C. New insights or redundant information? [J]. Rev Esp Cardiol, 2006, 59(3): 247-258.

[3] 张少敏,夏志琦,朱蕾,等. 冠心病患者合并代谢综合征危险因素与冠状动脉病变的关系[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(15): 1484-1486.

[4] Shi G P, Sukhova G K, Grubb A, *et al*. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms [J]. J Clin Invest, 1999, 104(9): 1191-1197.

[5] Sukhova G K, Wang B, Libby P, *et al*. Cystatin C deficiency increases elastic lamina degradation and aortic dilatation in apolipoprotein E-null mice [J]. Circ Res, 2005, 96(3): 368-375.

[6] Loew M, Hoffmann M M, Koenig W, *et al*. Genotype and plasma concentration of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(7): 1470-1474.

[7] Noto D, Cefalu' A B, Barbagallo C M, *et al*. Cystatin C levels are decreased in acute myocardial infarction: effect of cystatin C G73A gene polymorphism on plasma levels [J]. Int J Cardiol, 2005, 101(2): 213-217.

[8] Rao M, Guo D, Jaber B L, *et al*. Transforming growth factor-beta 1 gene polymorphisms and cardiovascular disease in hemodialysis patients [J]. Kidney Int, 2004, 66(1): 419-427.

(收稿:2010-03-09;修回:2010-04-10)

(编辑 王小寒)

经验交流

文章编号:1000-5404(2010)15-1688-02

国内外检测新蝶呤试剂盒的等效性研究

邸晓辉[1],贾志凌[2],刘 畅[2],柴丽娜[2],郑 绯[3],徐 娟[1]

(100700 北京,北京军区总医院:药理科[1],肿瘤科[2];100039 北京,解放军第302医院药学部[3])

【关键词】 新碟呤;胶体金法;酶联免疫法

【中图法分类号】 R446 【文献标志码】 B

新蝶呤(Neopterin, Npt)是生物蝶呤合成途径的一种中间代谢产物,化学名为2-胺基-4 羟基-6-(D-赤藓糖基1,2,3-三羟丙基)喋呤[1]。新蝶呤是在各种疾病中细胞免疫系统激活过程中产生的。因此,体液中新蝶呤浓度测定对于监测各种疾病中的细胞免疫活化有重要作用。目前实验室用于检测新蝶呤的方法主要有高效液相色谱法、放射免疫法、酶联免疫法(ELISA)和胶体金法[2]。胶体金法是指以胶体金作为示踪标志物应用于抗原抗体的一种新型的免疫标记技术,利用一步竞争法定性检测人血清或血浆中的新喋呤。德国BRAHMS公司和IBL公司生产的Neopterin ELISA试剂盒灵敏度高特异性强,有较大的市场覆盖率。本研究选择德国BRAHMS公司和德国IBL公司的产品作为对比试剂和第三方试剂盒,通过对比试验,证实深圳康生保生物技术有限公司生产的新蝶呤检测试剂(胶体金法)与已上市产品等效。

【通信作者】 徐 娟,电话:(010)66721842,E-mail:beizongjigou@163.com

1 材料与方法

1.1 实验材料及仪器

新碟呤检测试剂盒(胶体金法),批号20090901,深圳康生保生物技术有限公司生产;Neopterin ELISA Kit,批号ENO203,德国BRAHMS Aktiengesellschaft公司生产;Neopterin ELISA Kit,批号9099006,德国IBL-International GmbH公司生产;MK3酶标仪和洗板机(Thermofisher公司)。

1.2 实验样本

从本院2009年9-12月收集的含肿瘤、癌症、肺炎、肝病变、胃炎、支气管炎等患者的血清样本约107例。

1.3 实验设计与方法

根据《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》要求,采用已经获得CE认证的产品Neopterin EIA,德国BRAHMS公司的试剂盒作为对比试剂,德国IBL公司的试剂盒作为第三方试剂,

与深圳康生保生物技术有限公司提供的新碟呤检测试剂盒进行对比实验,通过计算两者符合率,评价国产试剂盒的质量性能和使用性能。将采集的上述血清样本编号,然后随机顺序进行实验,实验首先用深圳康生保生物技术有限公司提供的新碟呤检测试剂盒进行检测,然后用德国 BRAHMS 公司生产的 Neopterin ELISA Kit 试剂盒依次对深圳康生保生物技术有限公司检测过的样本进行检测,两种检测方法检测结果不同的样本,再用第三方试剂盒检测,试验操作严格按照厂家的使用说明书进行。

1.4 统计学分析

计算考核试剂的阳性符合率、阴性符合率、总符合率和一致性系数(K)。将原始数据用 SPSS 11.5 统计软件处理,行配对资料的 χ^2 检验。

阳性符合率 = A/(A + C) × 100%;阴性符合率 = D/(B + D) × 100%;总符合率 = [A + D]/(A + B + C + D)] × 100%;

$$\text{Kappa(K)} = \frac{2(AD - BC)}{(A+B)(B+D) + (A+C)(C+D)}$$

A:待考核试剂和对照试剂的检测结果均为阳性;B:待考核试剂检测结果阳性,对照试剂检测结果阴性;C:待考核试剂检测结果阴性,对照试剂检测结果阳性;D:待考核试剂检测结果和对照试剂检测结果均为阴性。

2 结果

2.1 深圳康生保试剂盒与德国 BRAHMS 公司试剂盒比较结果

结果见表 1。两种试剂的阳性符合率为 93.3%、阴性符合率为 72.6%,总符合率 81.3%。一致性系数为 0.632。

表 1 两种试剂盒的阳性率、阴性率、总符合率

考核试剂(深圳康生保)	参比试剂(德国 BRAHMS 公司)		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	42	17	59
阴性(-)	3	45	48
合计	45	62	107

2.2 德国 IBL 公司的试剂复测结果

对 107 例中检测结果不一致的 20 例样品用第三方德国 IBL 公司试剂复核,结果见表 2。

表 2 与第三方试剂复测结果

考核试剂(深圳康生保)	第三方试剂(德国 IBL 公司)		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	16	1	17
阴性(-)	2	1	3
合计	18	2	20

2.3 综合参比试剂、第三方试剂后的修正结果

对上述检测结果不一致的样本,用德国 IBL 公司的试剂复测,其结果与德国 BRAHMS 公司的检测结果综合修正后相比较,两种试剂的阳性符合率为 96.7%、阴性符合率为 97.9%,总符合率 97.2%,一致性系数为 0.943。见表 3。经修正的统计分析结果表明:两种检测结果在统计学上无显著性差异($\chi^2 = 107$, $P = 1.000\ 0$)。

表 3 综合参比试剂、第三方试剂后的修正结果

考核试剂(深圳康生保)	参比试剂(德国 BRAHMS 公司/德国 IBL 公司)		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	58	1	59
阴性(-)	2	46	48
合计	60	47	107

3 讨论

在临床上新蝶呤作为炎症的替代标记物已经被广泛地研究,尤其是像 HIV、恶性肿瘤、器官移植以及风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化症这类自体免疫疾病[3]。

在新蝶呤的各种检测方法中,HPLC 法分析速度快,分离效果好,有较好的精密度和准确度。但是此法需要高效液相色谱等设备,且样本需要预处理,也不适合批量样本的测定,故临床应用受到一定限制[3,4]。放射免疫分析法(RIA)就是利用放射性核素标记抗原或抗体,然后与被测的抗体或抗原结合,形成抗原抗体复合物的原理来进行分析。其优点是灵敏、特异、简便易行、用样量小,常可测至皮摩尔量。此法的缺点是有时会出现交叉反应,假阳性反应,组织样品处理不够迅速,不能灭活降解酶和盐,可能会影响结果等[5,6]。

深圳康生保生物技术有限公司生产的新蝶呤检测试剂盒采用胶体金免疫层析法原理,利用一步竞争法定性检测人血清或血浆中的新蝶呤,与 ELISA 和 RIA 相比简便易行,更容易被实验室所接受。本试剂盒具有高灵敏度、高特异性及简便、快速的特点,适用于病毒感染,创伤,免疫系统、内分泌系统、消化系统疾病及器官移植排异等的辅助诊断。

参考文献:

[1] 陈劲松, 金松华. 新蝶呤的测定及临床应用[J]. 检验医学,2009, 24(6):473 - 476.

[2] Giovannoni G, Lai M, Kidd D, *et al*. Daily urinary neopterin excretion as an immunological marker of disease activity in multiple sclerosis[J]. Brain, 1997, 120(Pt 1):1 - 13.

[3] 陈劲松,金松华,杨晓朝,等. 酶联免疫吸附试验检测新蝶呤的方法学评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(20):2816 - 2818.

[4] Rippin J J. Analysis for fully oxidized neopterin in serum by high-performance liquid chromatography[J]. Clin Chem,1992, 38(9):1722 - 1724.

[5] Krasowska D, Chodorowska G, Bartosinska J, *et al*. Serum levels of neopterin in patients with lichen planus[J]. Ann Univ Mariae Curie Sklodowska [Med], 2004, 59(1):346 - 350.

[6] Ledochowski M, Murr C, Widner B, *et al*. Inverse relationship between neopterin and immunoglobulin E[J]. Clin Immunol, 2001, 98(1):104 - 108.

(收稿:2010-05-10 修回:2010-06-03)
(编辑 汪勤俭)