

· 实验研究 ·

甲胎蛋白胶体金诊断试剂临床应用研究

蒋先敏 孔健 林涛 于秀英 陈颖 戴雨 杨航燕 孙晓丽 杨剑 杨永泉 张艳春

【摘要】 目的 用甲胎蛋白-放射免疫测定(AFP-RIA)试剂盒作对照,测定 AFP 胶体金诊断试剂的灵敏度及特异度。方法 双盲法对 426 份正常人血清、1 567 份临床门诊病人血清标本进行检测,以 AFP-RIA 定量测定试剂为判断标准,对卫生部北京生物制品研究所研制的 AFP 胶体金诊断试剂进行客观的临床考核。结果 AFP 胶体金诊断试剂在测定正常人血清标本时的假阳性率为 1.88%(8/426),该试剂在测定临床病人血清标本时的灵敏度达到 99.3%(272/274),特异度为 97.2%(1 257/1 293),与 AFP-RIA 诊断结果的符合率为 97.6%。结论 AFP 胶体金诊断试剂在灵敏度和特异度上均可以和 AFP-RIA 试剂相媲美,可以替代 AFP-RIA 试剂,用于原发性肝癌的筛查。

【关键词】 胶体金试验;甲胎蛋白;临床研究

Study on the clinical use of alpha-fetoprotein (AFP) colloidal gold diagnostic strip JIANG Xian-min*, KONG Jian, LIN Tao, YU Xiu-ying, CHEN Ying, DAI Yu, YANG Hang-yan, SUN Xiao-li, YANG Jian, YANG Yong-quan, ZHANG Yan-chun. *Beijing Institute of Biological Products, Beijing 100024, China

【Abstract】 Objective To test the sensitivity and specificity of alpha-fetoprotein (AFP) colloidal gold diagnostic strip as compared with RIA-AFP diagnostic kit. **Methods** Double blind method was used to test sera from 426 healthy people and 1 567 patients selected in two general hospitals and a cancer hospital. Each serum was measured by RIA-AFP and AFP colloidal gold diagnostic strip on the same day. RIA-AFP diagnostic results was identified as true positive or negative. **Results** Among 426 healthy people, all the RIA-AFP test showed negative result (serum AFP concentration less than 25 IU/ml), but the AFP colloidal gold diagnostic strip had 1.88% false positive. When comparing the result from 1 567 patients measured by RIA-AFP, the sensitivity and specificity of AFP colloidal gold diagnostic strip were 99.3%, and 97.2%, respectively. The crude correspondence rate between the two diagnostic regents was 97.6%. **Conclusion** AFP colloidal gold diagnostic strip showed very good result and could be used as a screening diagnostic kit in clinic and hospital settings.

【Key words】 Colloidal gold test; Alpha-fetoprotein; Clinical study

甲胎蛋白(AFP)是在胚胎时期由胚胎肝细胞合成的一种特殊的蛋白质,婴儿出生时血清中浓度下降接近正常成人水平。一旦肝细胞恶变为癌细胞时,大量的 AFP 重新在血清中出现。20 世纪 70 年代初 AFP 开始在我国作为肝癌高发区普查和肝癌的早期临床诊断指标之一^[1],目前临床上测定 AFP 采用放射免疫测定法(RIA)或酶联免疫法,这两种方法的灵敏度及特异度均较高,但操作较繁琐,检测时间较长,不宜在医院每天进行测定;且放射免疫测

定使操作人员受放射性同位素的辐射较重。我们利用近年来发展起来的胶体金层析法技术新研制了 AFP 胶体金诊断新型试剂,该试剂检测时间短,操作简单,可以单人份使用。2000 年已在 3 所医院进行临床研究,现将结果报道如下。

材料与方 法

1. 材料:

(1) AFP 胶体金诊断试剂由卫生部北京生物制品研究所研制(北京生研所)〔批号 200001、200002、200003〕。

(2) AFP-RIA 定量测定试剂盒购自中国医学科学院肿瘤医院佳科生物技术公司(双抗体夹心法,批号 20000127、20000522),北京市福瑞生物工程公司(竞争法,批号 0007)。AFP 定量质量控制血清购自中国药品生物制品检定所(批号 930120)。以上两种试剂盒定量测定血清 AFP 的线性测定范围为 5

基金项目:卫生部科学研究基金资助项目(98-2-048)

作者单位:100024 卫生部北京生物制品研究所免疫诊断研究室(蒋先敏、孔健、林涛);青岛大学医学院附属医院(于秀英、陈颖);空军总医院(戴雨、杨航燕、孙晓丽);中国医学科学院肿瘤医院(杨剑、杨永泉、张艳春)

通讯作者:孔健 Email: kongjian@btmail.net.cn

~ 400 IU/ml。

(3) 血清标本采集与存放: 收集血液于不含抗凝剂的一次性塑料试管中, 分离血清后立即用 AFP 胶体金诊断试纸检测及 AFP-RIA 测定。血清标本中 AFP 的含量如不能在 48 h 内用 AFP-RIA 测定, 应冻存于 -20℃。① 正常人血清标本 426 份, 来源于健康献血者、小学生、中学生及健康体检者。血清检测 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 1/2 阴性, 肝功能正常。② 病人血清标本 1 567 份, 采自青岛大学医学院附属医院门诊病人(500 份)、中国医学科学院肿瘤医院门诊病人(432 份)、空军总医院门诊病人(635 份), 均为到医院就诊的肝癌病人、其他癌症病人、孕妇及因各种疾病到医院就诊的病人。

2. 方法: 采用双盲法测定待检血清标本。先将血清标本按顺序编号并登记, 然后用 AFP 胶体金诊断试纸检测判定血清 AFP 是否阳性, 再用 AFP-RIA 试剂定量测定血清 AFP 的含量。

(1) AFP-RIA 测定: 按中国医学科学院肿瘤研究所佳科生物技术公司或福瑞生物工程公司提供的说明书操作。定量测定血清中 AFP 的含量, 血清 AFP 含量 ≥ 25 IU/ml 的判为 AFP 阳性。

(2) AFP 胶体金诊断试纸检测: 在试纸条的紫红色部分书写血清编号, 将试纸条的白色端(带 MAX 标记)插入含对应编号血清中, 10 s 取出, 平放在操作台上, 10 min 判定结果。试剂纸条仅在控制线(靠近紫红色 C 端)出现 1 条紫红色条带者为阴性, 除在控制线(C 端)出现 1 条紫红色条带外, 检测线也出现 1 条紫红色条带, 即同时出现 2 条紫红色带为阳性(血清 AFP 浓度 ≥ 25 IU/ml)。在对血清标本测定的同时进行 AFP 阳性、阴性质控血清的测定, 若控制线和检测线均无色带出现则表示检测试纸条失效或操作步骤错误。

结 果

1. AFP 胶体金诊断试剂检测正常人血清的特异性: 按照国家药品监督管理局的规定, 新型免疫诊断试剂必须对 400 份以上的正常人血清标本进行测定。用 AFP-RIA 试剂盒(双抗体夹心法)对正常人血清标本进行测定, 筛选出 426 份血清标本 AFP 含量低于 25 IU/ml, 重复测定 1 次, 结果与初次测定的相同。对此 426 份正常人血清标本用 AFP 胶体金诊断试纸检测, 以 AFP-RIA 检测结果作为判断血清 AFP 阳性、阴性的标准, 对胶体金诊断试剂进行特异性考

核, 检测的结果(表 1)显示, AFP 胶体金诊断试剂检测 426 份正常人血清, 其中阳性 8 份, 阴性 418 份, 试剂的特异度可以达到 98.12%。

表 1 AFP-RIA 试剂盒和 AFP 胶体金诊断试纸检测正常人血清结果

胶体金	AFP-RIA		合计
	阳性份数	阴性份数	
阳性份数	0	8	8
阴性份数	0	418	418
合 计	0	426	426

2. AFP 胶体金诊断试剂检测临床血清标本的灵敏度、特异度: 用 AFP-RIA 定量试剂盒和 AFP 胶体金诊断试纸条, 对 3 所不同的医院 1 567 份临床血清标本进行了 AFP 测定。AFP-RIA 试剂盒(双抗体夹心法)检测 932 份血清标本(青岛大学医学院附属医院和中国医学科学院肿瘤医院), AFP-RIA 试剂盒(竞争法)检测 635 份血清标本(空军总医院)。AFP-RIA 与 AFP 胶体金诊断试纸条的检测结果见表 2, 3。分别以上述两种 AFP-RIA 定量诊断试剂为金标准, 计算 AFP 胶体金诊断试纸的灵敏度、特异度及符合率。

表 2 AFP-RIA(夹心法)与 AFP 胶体金诊断试纸测定结果

胶体金	AFP-RIA		合计
	阳性份数	阴性份数	
阳性份数	185	25	210
阴性份数	2	720	722
合 计	187	745	932

注: 灵敏度为 98.9%, 特异度为 96.6%, 符合率为 97.1%

表 3 AFP-RIA(竞争法)与 AFP 胶体金诊断试纸测定结果

胶体金	AFP-RIA		合计
	阳性份数	阴性份数	
阳性份数	87	11	98
阴性份数	0	537	537
合 计	87	548	635

注: 灵敏度为 100%, 特异度为 97.9%, 符合率为 98.3%

由以上两种 AFP-RIA 试剂共检测 1 567 份血清标本, 检测出阳性血清 274 份, 经 AFP 胶体金诊断试剂检测其中 2 份为阴性, 且 2 份(采自心肌炎、慢性支气管炎患者)AFP 阳性血清的 AFP 含量分别为 25 IU/ml 和 40 IU/ml。综合统计上述测定结果, AFP 胶体金诊断试剂灵敏度达到了 99.3%; 在 AFP-RIA 检测的 1 719 份阴性血清中有 44 份被 AFP 胶体金诊断试剂检测为阳性, AFP 胶体金试剂特异度为 97.4% (1 675/1 719), AFP 胶体金试剂与 AFP-RIA 的粗一

致性为 97.6%。

由于用中国医学科学院肿瘤医院病人血清标本做 AFP 检测时, 检验科室只能知道送检科室及病床号, 不能直接了解疾病诊断情况, 故对肿瘤医院的 432 例患者不能进行疾病分类统计。表 4 为对青岛大学医学院附属医院、空军总医院的 1 135 例病例患病类型及血清检测阳性率的统计结果。从统计结果可以看出, 除慢性肝炎肝硬化、肿瘤及孕妇, 其他各种疾病患者血清 AFP 的阳性检出率均低于 5%。52 例原发性肝癌患者中, AFP 升高者 50 例, 阳性检出率 96.2%, AFP-RIA 与 AFP 胶体金诊断试纸的诊断结果完全一致。怀孕 3 个月以上的孕妇, 血清中 AFP 的含量绝大多数高于 25 IU/ml, 对 124 例孕妇测定的结果表明, 胶体金诊断试剂的检测方法与 AFP-RIA 的测定结果亦完全一致。

表 4 1 135 例临床病例疾病分布情况

疾病分类	病例数	AFP-RIA		AFP 胶体金	
		阳性例数	阳性率 (%)	阳性例数	阳性率 (%)
呼吸系统	153	1	0.65	4	2.61
消化系统	117	1	0.85	5	4.27
心血管系统	129	1	0.78	3	2.33
泌尿系统	47	0	0.00	2	4.26
内分泌系统、骨关节	18	0	0.00	0	0.00
妇科	23	0	0.00	0	0.00
胆管疾病	20	0	0.00	2	10.00
体检病因待查	244	3	1.23	8	3.28
其他肿瘤	157	6	3.82	13	8.28
慢性肝炎肝硬化	51	36	70.59	36	70.59
原发性肝癌	52	50	96.15	50	96.15
孕妇	124	117	94.35	117	94.35
合计	1 135	215		240	

讨 论

AFP 在正常成人血清中含量很低, 当肝细胞发生癌变时, 血清中的 AFP 含量升高, AFP 可以在原发性肝癌发病前 2 年就开始升高^[2,3], 而且与原发性肝癌患者血清中 HBsAg 有相关性, 尤其在 AFP 中度和高度升高时这种相关更加明显。若在待检血清中检查到超过 25 IU/ml 的 AFP, 又能排除诸如妊娠、活动性肝病等可能的假阳性情况及男性生殖系统癌症, 便可考虑诊断为原发性肝癌。尽管目前诊断原发性肝癌的检测方法有多种, 相比之下, AFP 仍为原发性肝癌较特异性的指标。在原发性肝癌病人中, 约 70% ~ 80% 的患者血清 AFP 浓度显著升高, 且一般认为 AFP 的浓度与肝癌的大小相关。

本次进行临床研究的 AFP 胶体金诊断试剂系采用两株识别 AFP 不同位点的单克隆抗体, 结合近些年新发展起来的胶体金层析技术而制成的新型诊断试剂。北京生研所研制的该快速诊断试剂为国内外第一家获得国家级新药证书及生产文号的 AFP 胶体金诊断试剂。与目前定量范围较广的 AFP-RIA 及定量范围较窄的固相酶联免疫测定试剂相比, 其最大的特点是具有以上两种方法灵敏度高、特异性好优点的同时, 简化了实验操作, 即开即用、出结果快 (5 ~ 10 min), 不需要专门仪器测定、结果易于判别。

从以上结果可以看出, 我们研制的 AFP 胶体金检测试剂的灵敏度高、特异性好, 对 AFP 升高疾病的辅助诊断有较高的参考价值。在人群肝癌普查时或医院门诊病人筛查时, 漏诊的可能性比较少。此次 3 家临床医院研究的结果表明, 胶体金 AFP 诊断试剂假阳性率仅为 1.88% ~ 2.80%, 对于此部分假阳性病人或健康查体者, 可用 AFP-RIA 或 AFP-EIA 试剂进行定量测定, 同时结合病人的临床症状加以综合判断, 排除假阳性。另外该试剂操作简便, 可大大减轻门诊检验人员的工作量, 减少 AFP 测定中放射免疫诊断试剂的用量, 有利于环境保护及减少检验人员接触放射性同位素的机会。

我国是一个发展中国家, 同时也是一个肝癌高发国家, 县级以下医院及城市中的社区保健中心、卫生院等一般很少配备 RIA、EIA 测定设备及专业级的检验医师, AFP 胶体金诊断试纸具有简便、快速、可单份操作的优点, 能满足中小型医院及诊所快速测定血清 AFP 含量的要求, 推广使用 AFP 胶体金诊断试剂这一方便使用的定性 (血清 AFP 含量 > 25 IU/ml) 检测试纸, 有利于早期发现肝癌患者, 提高我国肝癌患者的生存率及延长其生存期^[4]。

参 考 文 献

- 1 朱源荣. 现场血清甲种胎儿蛋白普查与肝癌的早期诊断. 中华肿瘤杂志, 1981, 3:35-37.
- 2 朱源荣, 陆培新. 血清甲胎蛋白普查的临床价值. 中华肿瘤杂志, 1983, 5:38-40.
- 3 David Wild. The Immunoassay Handbook. Nature Publishing Group. New York, 2001. 635-642.
- 4 戴万荣, 郭金星. 主编. 检验医学临床应用. 上海: 上海科学普及出版社, 2001. 304-311.

(收稿日期 2002-06-20)

(本文编辑: 尹廉)