

长江后浪推前浪——不一样的流水荧光检测技术

我国检验专业起步较晚，解放初期的检验技术水平很低，依赖于手工操作的比色分析法曾为我国检验事业作出了巨大贡献。经过数十余年的发展，我国成功实现了医学检验到检验医学的历史转变，现阶段的检验医学已形成前所未有的新格局。酶法在广泛的领域取代了传统的化学法，固相酶免疫测定方法（ELISA）以其无放射性污染等优点终结了放射免疫分析（RIA）时代，而化学发光免疫分析更是将测定的敏感度和精密度提升到一个新高度。

进入新世纪以来，一种全新的发光检测方法——流式荧光法开始走进人们的视野。**流式荧光法在继承化学发光法高灵敏度和精密度的同时，更开创性的具有多重指标联检特色及高通量、高速度等诸多优势。**流式荧光技术有望助推我国检验医学事业进入新境界。

什么是流式荧光技术？

流式荧光技术是美国 Luminex 公司于上世纪末开发的新一代高通量发光检测技术，其有机整合了荧光编码微球、激光分析、流式液流系统及高速数据处理等多项最新科技，在临床诊断及生命科学研究领域具有广泛的应用。流式荧光技术是最早被 FDA 认证的临床应用型高通量诊断技术，并于 2005 年 Frost&Sullivan 授予“临床诊断技术革新大奖”。

流式荧光技术如何实现高效的多指标联检？

荧光编码微球是流式荧光技术的一大技术核心。均一的 $5.6\ \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯微球可长久悬浮于液体中，表面一亿个活化羧基基团可共价交联特异性抗体或核酸探针，并与样本中待检组分发生类均相的抗原抗体或杂交反应（**因此平台上核酸和免疫项目均能检测**）。微球被两种荧光染料按 10×10 的浓度梯度染色编码，形成 100 种不同特征荧光谱的微球。由于在同一体系中，不同编码微球各自反应、互不干扰，因此每种微球可共价交联任意蛋白或核酸探针，**实现一次检测获得 100 项结果的高通量联合检测，也因此可进行新项目的开发及个体化检测试剂的定制。**微球逐颗经过检测仪器时，红色激光识别微球编码确定项目类型，绿色激光读取检测物信号值进行定量或定性分析。

流式荧光技术的多重联检特色尤其适用于肿瘤标志物的临床检测。众所周知，肿瘤标志物可反映肿瘤存在和生长状态，在肿瘤早期筛查及辅助诊断、疗效观察和复发监测以及预后判

断具有重要的价值。然而单项肿瘤标志物的灵敏度和特异性有限，因此 NACB、EGTM、ASCO 等众多国际肿瘤权威组织推荐使用几项合适的 TM 组合来提高肿瘤的早期检出率。如针对肺癌检测，EGTM 推荐 CYFRA21-1、NSE、CEA 的组合。《中国原发性肺癌诊疗规范（2015 版）》推荐 NSE、ProGRP、CYFRA21-1、CEA 和 SCC 的不同组合来提高肺癌的检出。《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见》中推荐 PG I、PG II 的指标组合可用于胃癌的早期筛查。

流式荧光法的联检特性恰好契合了肿标多指标检测的临床需求：

- ✓ 首先是速度优势，相比于化学发光法，流式荧光技术的检测速度青出于蓝。流式荧光平台由于其联检优势，检测速度为 $120 \times n$ （指标量）T/h，效率可达化学发光法的数倍。如针对肺癌的 5 项指标组合检测速度可达 600T/h，涵盖中国 85% 以上高发恶性肿瘤的精选 7 项组合（AFP、CA125、Cyfra21-1、CA24-2、CEA、free- β -hCG、NSE）检测速度达 840T/h，而传统的化学发光法为 200T/h。
- ✓ 其次，联合检测意味着一次检测即可同时出多项结果，不仅大大节省了试剂位和耗材，同时可有效避免冗杂出错、减少人力成本和仓储压力，更有效减少了样本量需求。
- ✓ 此外，平台上的涵盖 TM 指标齐全，还可根据用户需要，灵活组合后进行联合检测。
- ✓ 肿标流式荧光法同样具有与化学发光法媲美的检测性能：董振南等[1]在对平台上多肿瘤标志物的检测方法学评价中，显示与化学发光法相关性良好，对 AFP、CYFRA21-1、CEA 及 NSE 的检测相关系数分别为 0.9760、0.9268、0.9727 及 0.8990。徐京昕等[2]及张玥等[3]同样进行了 TM 检测性能验证，认为流式荧光平台适合于临床检测推广。北京市体检中心[4]使用流式荧光平台，对当地 23 566 名健康人群血清 AFP、CEA 进行分析，显示出在不同年龄层和性别间的显著差异性，与在化学发光平台上的检测结果一致。

不止于此！

流式荧光法既可用于免疫检测又可用于核酸检测是其带给检验实验室的另一大惊喜。HPV 病毒与女性宫颈癌发生密切相关，同一高危型别 HPV 的持续感染是宫颈癌发生的必要条件，因此适龄女性的 HPV 筛查及分型检测对于宫颈癌防治具有重要意义。基于流式荧光平台的一次检测可同时对 27 种 HPV 亚型（17 种高危+10 种低危）进行具体分型。

此外，由于平台出色的拓展性，流式荧光技术在 ToRCH 检测、心脏标志物、自身免疫抗核抗体、HLA 分型、胃肠道病原体及呼吸道病毒等诸多项目领域均有重要的临床应用。

透景生命是国内最早引入流式荧光技术的体外诊断试剂公司，也是 Luminex 公司在国内最

大的开发型合作伙伴，在国内最早获得 CFDA 批准将流式荧光技术用于临床检验试剂的生产。此外，公司自主研发的全自动高通量免疫检测系统（TESMI）成功实现了流式荧光技术的全自动化。

上海透景生命科技股份有限公司