

件要求,采用每天 1 个批次,2 个浓度,每个浓度重复测定 4 次,连续 5 d 的方法。本方法简便实用,能在不同实验室应用,而且其提供的统计学结论也足够严密^[8]。本实验 Centaur XP 系统检测 E2 的分析性能验证结果显示,2 个水平的质控品精密度验证结果 $S_{\text{批内}}$ 、 $S_{\text{总}}$ 分别小于 $s_{1/4}$ 、 $s_{1/3}$ 。

准确度验证也参考 EP15-A 文件,采用 2 个批号赋值校准品进行检测,其验证值与靶值的偏差在 2.25%~6.26% 范围,满足 CLIA'88 的要求。

CLSI 推荐的判定线性的多项式回归分析方法,是从统计学和临床要求两个方面判定线性,其中涉及目测检验、测量数据的精确度检验和多项式回归分析^[9]。此方法被认为是目前最佳判断线性的方法^[10-12]。其结果有 4 种形式:(1)线性 1,数据拟合的最佳形式为直线,所有数据几乎均落在一条直线上,且数据的精密度较高。(2)线性 2,数据拟合的最佳形式为非直线,但数据均在 CLIA'88 的可接受范围内,数据拟合非线性无临床意义。(3)非线性,数据拟合的最佳形式为非直线,且数据超过了线性的可接受范围,并可能有临床意义。(4)不精密,每份样本的重复性差,数据有较大变异,导致统计学功效降低,不能用于评价线性^[13]。在用此方法评价过程中,需要考虑随机误差。本实验相对误差小于 $s_{1/3}$ 。虽然三次拟合曲线为非直线,但其每浓度处与线性模型的 $Dli\%$ 小于 $s_{1/3}$,可以认为所引入的误差不超过临床允许误差,可以接受作为线性处理。

CRR 验证实验结果表明,稀释后最低检测值应大于 109.91 pg/mL;最大稀释度为 10 倍稀释,当患者标本检验结果高于线性范围时,必须进行稀释,但不宜超过 10 倍,换算出 CRR 为 6.69~9 740.8 pg/mL。

检测系统或者方法的分析性能评价是临床检验质量管理的重要内容,设备在临床应用之前必须要进行性能验证,以确定设备能达到所要求的性能指标,才能最终判断整个检测系统的可接受性。化学发光免疫分析系统因其具有简便易行、标记物制备容易、稳定性高、便于实现完全自动化和不污染环境等优点,特别是能在较短的时间内得到实验结果,因此深受检验医学工作者和临床医师的好评^[14]。本实验对结果表明,Centaur XP 化学发光免疫分析仪测定 E2 具有精密度好、准确性

• 仪器使用与排障 •

高等优点,可以满足临床检测需求。

参考文献

- [1] 秦晓光.“检查结果互认”和质量管理[J].中华检验医学杂志,2007,30(2):132-135.
- [2] 李金明,申子瑜.正确认识临床实验室认可与提高检验质量之间的关系[J].中华检验医学杂志,2007,30(2):136-139.
- [3] 张雅芳,张云,陈宝娟,等.强生 Vitros350 生化分析仪验收及性能的综合评价[J].国际检验医学杂志,2011,32(1):3-5.
- [4] CLSI. EP-15A User demonstration of performance for precision and accuracy; approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 2001.
- [5] CLSI. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach. approved guideline[S]. Wayne, Pa: CLSI, 2003.
- [6] 张秀明,庄俊华,郑松柏,等.临床化学发光免疫法检测 AFP 的分析性能验证与实验方法[J].中华检验医学杂志,2007,30(11):1293-1297.
- [7] 毕波,吕元.定量检测方法学性能验证的系统设计[J].中华检验医学杂志,2007,30(2):143-145.
- [8] 杨有业,张秀明.临床检验方法学评价[M].北京:人民卫生出版社,2009:110.
- [9] Jhang JS, Chang CC, Fink DJ. Evaluation of linearity in the clinical laboratory[J]. Arch Pathol Lab Med, 2004, 128(1): 44-48.
- [10] Kroll MH, Emancipator K. A theoretical evaluation of linearity[J]. Clin Chem, 1993, 39(3): 405-413.
- [11] Krouwer JS, Schlain B. A method to quantify deviations from assay linearity[J]. Clin Chem, 1993, 39(8): 1689-1693.
- [12] Emancipator K, Kroll MH. A quantitative measure of nonlinearity [J]. Clin Chem, 1993, 39(5): 766-772.
- [13] 黄亨建,宋昊岚,李萍.检测系统的线性分析与校正验证[J].中华检验医学杂志,2006,29(6):562-564.
- [14] 李振甲,应希堂,马世俊.化学发光免疫分析技术的研究现状与展望[J].国际检验医学杂志,2006,27(1):95-97.

(收稿日期:2011-01-22)

Cobas c311 自建系统测定血清胱抑素 C 的方法学评价

张磊,王金华,朱建宏,王香玲,何谦

(西安交通大学医学院第二附属医院检验科 710004)

摘要:目的 探讨颗粒增强免疫比浊法在罗氏 Cobas c311 非原装试剂自建系统中测定血清胱抑素 C(CysC)的性能评价。**方法** 通过自建测定系统研究血清 CysC 测定的精密度、回收率、检测限、干扰因素、线性范围,同时与日立 7600 进行方法学比较。**结果** 自建系统测定 CysC 批内平均变异系数(CV)为 1.79%,检测限为 0.04 mg/L,平均回收率 101.67%。血红蛋白在 6.2 g/L 以下对测定结果无明显干扰。胆红素小于或等于 227.5 mmol/L、三酰甘油小于或等于 24.2 mmol/L 时,对测定结果无明显干扰。该系统具有良好的线性范围(0.20~5.49 mg/L),与日立 7600 全自动生化仪比较有良好的相关性, $Y=0.1122+0.801X$, $r=0.969(P<0.01)$ 。**结论** 该自建系统在罗氏 Cobas c311 测定血清 CysC 具有较高的精密度和灵敏度,可以大批量及临床常规使用,有助于改良和简化临床检验过程。

关键词: 散射浊法法和比浊法; 胱抑素 C; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)14-1617-03

慢性肾脏疾病(CKD)在全球范围内日益受到重视。肾小球滤过率(GFR)被认为是最好的肾功能指标之一^[1]。实践中,

临床上往往通过测定血清肌酐的方法按照公式计算出 GFR。但血清肌酐受年龄、性别、种族、体质量和饮食等因素的影响,

具有一定的局限性。在检测分析方法上,血清肌酐检测也受多种药物和其他内源性物质的影响。此外,只有在 GFR 减低至 50% 以下时血清肌酐才明显升高^[2],所以血清肌酐不能有效地鉴别早期 CKD。

已有研究资料提出胱抑素 C(CysC)可作为替换血清肌酐的指标来评价肾功能^[3-4]。相对血清中肌酐的浓度,血清 CysC 浓度很少受炎症反应、饮食和体质因素的影响。因此,血清 CysC 是一种反映肾小球滤过功能的较理想指标,其检测性能也优于血清肌酐。特别是血清 CysC 的升高更能迅速、准确地反映早期 GFR 下降。已有文献表明,在儿童、老年人中,血清 CysC 测定优于血清肌酐^[5-6],并且血清 CysC 对心血管疾病事件的危险因素评价也是一种有效的指标^[7]。因此,本文对罗氏 Cobas c311 全自动生化仪检测血清 CysC 的性能进行了系统的评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择来本院健康体检的 129 例体检人员和 49 例肾内科门诊及住院患者的血清。血清标本 4℃ 保存,1 周内完成检测。

1.2 仪器与试剂 试剂:CysC 检测试剂盒(批号:101013P)标准液浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/L,质控(批号:090421)均由北京九强生物技术有限公司提供。仪器:罗氏 Cobas c311 全自动生化分析仪、日立 7600 全自动生化分析仪、Sysmex-800i 血细胞分析仪。

1.3 方法 标本中的 CysC 与超敏化的抗人 CysC 抗体胶颗粒试剂反应,形成免疫复合物,在 570 nm 波长处检测其吸光度的变化,其变化程度与样本中的 CysC 浓度呈正比。通过测定特定波长下的吸光度值,参照标准曲线即可计算血清中 CysC 的浓度。罗氏 Cobas c311 全自动生化仪的主要参数如下:主波长 570 nm,副波长 800 nm;温度 37℃;方法为两点法。试剂 I 180 μL 和标本 3 μL 混合后,加入试剂 II 60 μL,在凝集反应 10 min 后测定吸光度,从而得出 CysC 的浓度。

1.4 统计学处理 所得数据均由 SPSS13.0 统计学软件分析。图表由 EXCEL 软件进行编辑。

2 结果

2.1 精密度 按照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP5-A2 要求^[8],分别用厂家提供的质控 I (1.60 mg/L)和质控 II (4.30 mg/L),每天测定 5 次,连续测定 8 d。测得质控 I 和质控 II 的均值分别为 1.64、4.33 mg/L,变异系数(CV)分别为 1.87%、1.69%,均小于 5%,重复性符合 NCCLS 要求。

2.2 检测限(LOD) 运用 Linnet 和 Kondratovich^[9]的非参数模型估计出该自建系统的 LOD。(1)用空白(蒸馏水)每日测定 10 次,连续测定 3 d(n=30)得均值为 0.005 7 mg/L。(2)用低浓度 5 份标本血清检测 CysC,每日测定 10 次,连续测定 2 d(n=20)得标准差 s=0.018 03。按照非参数模型可估计检测限为 0.04 mg/L。

2.3 回收实验 选择健康人外观正常的血清经过 5 次反复测定,确定低浓度(0.64 mg/L)和高浓度(3.53 mg/L)标本 2 份,按照 2:1、1:1、1:2 的比例混合后,连续反复测定 3 次。计算测定浓度与期望浓度的比率(回收率),见表 1。

2.4 干扰试验 (1)溶血干扰试验:将健康人 EDTA 抗凝血用生理盐水洗涤 3 次,用蒸馏水破坏红细胞配置成血红蛋白(Hb)浓度为 125 g/L 的溶液后,用生理盐水按比例稀释成

0.6、1.6、3.2、6.2、12.5 g/L 的 Hb 溶液。分别加入 CysC 低值(0.75 mg/L)和高值(4.66 mg/L)的血清中。测定混合血清中 CysC 浓度。比较测定值与预测值的比例,浓度比例在 85%~115%之间作为可以接受干扰浓度。因此,血清中 Hb≤6.2 g/L 时,对 CysC 测定结果没有明显的干扰作用。(2)胆红素干扰试验:收集以患者高胆红素(TBIL)浓度血清(524.9 μmol/L)按比例稀释成 14.2、28.4、56.8、113.7、227.5 μmol/L,分别加入 CysC 低值(0.99 mg/L)和高值(3.18 mg/L)的血清中。测定混合血清中 CysC 浓度,得 TBIL≤220 μmol/L 对测定没有明显影响。(3)血脂干扰试验:用药用脂肪乳(TG,20%)按比例分别加入 CysC 低值和高值血清中,结果 TG≤24.2 mmol/L 对测定没有明显影响。

表 1 Cobas c311 系统免疫比浊法测定 CysC 的回收率

比例	期望值(mg/L)	测定值(mg/L)	回收率(%)
2:1	1.60	1.63	102
1:1	2.09	2.11	101
1:2	2.57	2.61	102

2.5 方法学比对试验

2.5.1 取 178 例标本分别用罗氏 Cobas c311 全自动生化分析仪(Y)和日立 7600 全自动生化仪(X)同时测定 CysC 浓度,两者之间相关性良好,得 $Y=0.112 2+0.801X, r=0.969(P<0.01)$ 。罗氏 Cobas c311 测定 CysC 较日立 7600 测定值具有轻度的偏倚,且平均低 0.12 mg/L。

2.5.2 罗氏 Cobas c311 全自动生化分析仪和日立 7600 全自动生化仪测定 CysC≥1.30 mg/L 为临床肾功能降低诊断阳性(+)水平^[10]。两者进行四格表统计学分析得见表 2,两者检测结果差异具有统计学意义(P<0.01)。

表 2 Cobas c311 与日立 7600 全自动生化仪测定 CysC 比较(n)

日立 7600	Cobas c311		总和
	+	-	
+	36	13	49
-	0	129	129
总和	36	142	178

3 讨论

笔者通过各种试验评价了罗氏 Cobas c311 全自动生化分析仪颗粒增强免疫比浊法测定 CysC 的性能。结果表明,本室自建的检测系统具有较低的批内变异系数(CV 分别为 1.87%、1.69%)、良好的回收率(101.7%)、优良的 LOD(0.04 mg/L)。在低浓度血清标本的测定中,比同厂家其他系列仪器具有明显的优势^[11-12]。在干扰因素方面,Hb≤6.2 g/L 对检测无明显干扰,这与相关文献报道相符^[13]。

与日立 7600 全自动生化仪的方法学比较,结果显示两者之间具有良好的线性关系 $Y=0.112 2+0.801X, r=0.969(P<0.01)$,但罗氏 Cobas c311 全自动生化分析仪检测结果略低于日立 7600 生化分析仪。但罗氏 Cobas c311 全自动生化分析仪与日立 7600 生化分析仪相比,具有闭合试剂、稳定性较好、特异度较高等优点。颗粒增强免疫比浊法操作简便、快速、

准确, 10 min 即可得出结果, 适合批量操作, 不需特殊仪器, 适宜在全自动生化分析仪上使用^[14]。综上所述, 用本室 Cobas c311 自建颗粒增强免疫浊度法检测血清 CysC 浓度快速、简便、准确、可靠, 可以在医院广泛开展。本研究同时为实验室质量控制提供了可靠的基础。

参考文献

- [1] Levey AS, Coresh J, Balk E, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification[J]. *Ann Intern Med*, 2003, 139(2): 137-147.
- [2] Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts[J]. *Clin Chem*, 1992, 38(10): 1933-1953.
- [3] Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine[J]. *Kidney Int*, 1995, 47(1): 312-318.
- [4] Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, et al. Cystatin C as marker of GFR. History, indications and future research[J]. *Clin Biochem*, 2005, 38(1): 1-8.
- [5] Bökenkamp A, Domanetzi M, Zinck R, et al. Cystatin C. A new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height[J]. *Pediatrics*, 1998, 101(5): 875-881.
- [6] Finney H, Bates CJ, Price CP. Plasma cystatin C determination in

a healthy elderly population[J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 1999, 29(1): 75-94.

- [7] Taglieri N, Koenig W, Kaski JC. Cystatin C and cardiovascular risk[J]. *Clin Chem*, 2009, 55(11): 1932-1943.
- [8] NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
- [9] Linnet K, Kondratovich M. Partly non parametric approach for determining the limit of detection[J]. *Clin Chem*, 2004, 50(4): 732-740.
- [10] Ognibene A, Mannucci E, Caldini A, et al. Cystatin C reference values and aging[J]. *Clin Biochem*, 2006, 39(6): 658-661.
- [11] Conde-Sánchez M, Roldán-Fontana E, Chueca-Porcuna N, et al. Analytical performance evaluation of a particle-enhanced turbidimetric cystatin C assay on the Roche Cobas 6000 analyzer[J]. *Clin Biochem*, 2010, 43(10/11): 921-925.
- [12] 席金瓯. 免疫浊度法检测血清胱抑素 C 在罗氏全自动生化分析仪上的应用评价[J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(18): 3144-3145.
- [13] Flodin M, Larsson A. Performance evaluation of a particle-enhanced turbidimetric cystatin C assay on the Abbott ci8200 analyzer[J]. *Clin Biochem*, 2009, 42(9): 873-876.
- [14] 张雅芳, 张云, 陈宝娟, 等. 强生 Vitros350 生化分析仪验收及性能的综合评价[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(1): 3-5.

(收稿日期: 2011-01-30)

(上接第 1605 页)

健康体检时发现糖代谢异常的居民要给予积极干预, 加强 DM 防治知识教育, 让他们了解通过改变不良生活方式、增加运动、平衡饮食、降低体质量、定期随访观察, 有可能避免 DM 的发生, 保持 DM 低发病率, 从而减少 DM 的患病人数, 达到良好的一级预防效果。

在此次检测中, 若 FPG 正常水平的居民, 笔者建议应每年监测 1 次血糖; 从未确诊为 DM 的患者此次血糖高于正常, 告诉他们患 DM 的危险性高, 但一次检测出的血糖升高, 不一定是 DM, 去除可能引起血糖升高的原因后, 3 d 内再测 FPG, 如果测量结果仍高于正常, 建议患者到上级医院就诊, 检测糖化血红蛋白、胰岛素等其他指标确诊。

近年来, 中国经济和社会迅速发展, 生活方式的改变、人口老龄化和文化程度较低是 DM 患病率迅速增长的根本原因, DM 的患病人数和患病率持续增长, 会对国民经济造成很大的影响。宝鸡地区的农村居民, 人口多, 基数大, 潜在患病人数也多, 亟须对高危人群进行干预。应加强对农村人群的健康教育, 提高居民的健康意识, 改变不良的生活方式, 及时发现 DM 和 TGR 患者, 加强早期筛查和干预, 预防 DM 的发生, 降低 DM 的患病率。

参考文献

- [1] 王克安, 李天麟, 向红丁, 等. 中国糖尿病流行特点研究糖尿病和

糖耐量减低患病率调查[J]. *中华流行病学杂志*, 1998, 19(5): 282.

- [2] 李立明, 饶克勤, 孔灵芝, 等. 中国居民 2002 年营养与健康状况调查[J]. *中华流行病学杂志*, 2005, 26(7): 478-484.
- [3] 徐志鑫, 耿坤, 庞武元, 等. 北京市昌平区居民主要慢性病及影响因素分析[J]. *中国公共卫生*, 2008, 24(8): 1010-1011.
- [4] 李社莉, 张永莉, 吕双燕, 等. 延安市居民糖尿病及糖代谢异常状况调查[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2010, 18(2): 46-47.
- [5] 蒋泽先. 健康教育的理由[M]. 南昌: 江西人民出版社, 2008: 71.
- [6] 韩子荣. 中国城乡卫生服务公平性研究[M]. 北京: 中国社会科学出版社, 2009: 188.
- [7] 靳英辉, 贾文琴, 田金徽, 等. 生活方式干预对糖耐量减低患者干预效果的 Meta 分析[J]. *中华护理杂志*, 2010, 45(3): 271-273.
- [8] 任京媛, 余振球, 赵冬, 等. 空腹血糖正常的住院高血压患者的糖耐量调查分析[J]. *中华心血管病杂志*, 2009, 37(2): 134-137.
- [9] 蒋升, 严丽君, 张莉, 等. 空腹血糖受损人群葡萄糖负荷后血糖代谢特征及相关因素分析[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2009, 23(12): 1158-1160.
- [10] 张丽红, 向红丁, 许岭翎, 等. 不同状态的糖调节受损患者胰岛素分泌和胰岛素敏感性的差异[J]. *中国糖尿病杂志*, 2009, 17(6): 461-463.

(收稿日期: 2011-03-09)