

平对类风湿关节炎的诊断价值[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(8).

[5] Cho SY, Kang SY, Lee HJ, et al. A Comparative Evaluation of the Diagnostic Value of Anti-cyclic Citrullinated Peptide and Rheumatoid Factor in Rheumatoid Arthritis[J]. Korean J Lab Med, 2008, 28:39-45.

[6] Sauerland U, Becker H, Seidel M, et al. Clinical Utility of the Anti-CCP Assay Experiences with 700 Patients[J]. Ann NY Acad Sci, 2005, 1050:314-318.

[7] Labrador-Horrillo M, Martinez MA, Selva-O'Callaghan A, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with idiopathic inflammatory myopathy[J]. Rheumatology, 2009, 48(6):676-679.

[8] Mignot-Grootenberg S, Coh en-Solal J, Desmoulins F, et al. 15% prevalence of anti cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in patients with primary Sjögren's syndrome[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(Suppl.):S569.

[9] 尹耕, 岑筱敏, 杨岗, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体在混合性结缔组织病中的检测及意义[J]. 四川大学学报:医学版, 2011, 42(3):374-377.

[10] Fusconi M, Vannini A, Dall'Aglio AC, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in type 1 autoimmune hepatitis[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2005, 22(10):951-955.

[11] Vander Cruyssen B, Hoffman IE, Zmierzczak H, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies may occur in patients with psoriatic arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2005, 64(8):1145-1149.

[12] Elkayam O, Segal R, Lidgi M, et al. Positive anti-cyclic citrullinated proteins and rheumatoid factor during active lung tuberculosis[J]. Ann Rheum Dis, 2006, 65(8):1110-1112.

[13] Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, et al. Antibodies against citrullinated peptides and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48:2741-2749.

[14] Meyer O, Labarre C, Dogados M, et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage[J]. Ann Rheum Dis, 2003, 62(2):120-126.

[15] Shidara K, Inoue E, Hoshi D, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody predicts functional disability in patients with rheumatoid arthritis in a large prospective observational cohort in Japan[J]. Rheumatol Int, 2012, 32(2):361-366.

[16] 岳涛, 程鹏, 范晓蕾, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体和关节磁共振成像对早期类风湿关节炎的意义[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(23):1633-1636.

[17] Vencovsky J, Macháček S, Sedová L, et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2003, 62(5):427-430.

(收稿日期:2012-06-09)

• 检验仪器与试剂评价 •

电化学发光免疫法检测降钙素原的空白限、检出限和功能灵敏度的评价*

黄燕华, 张秀明[△], 王伟佳, 温冬梅, 欧阳能良, 慕月晶, 阚丽娟, 严海忠, 胡 婷
(中山大学附属中山医院检验医学中心, 广东中山 528403)

摘要:目的 对 Roche Cobas E601 全自动电化学发光免疫检测系统检测降钙素原(PCT)的检测限值和功能灵敏度(FS)进行评价。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP-17A 文件, 将空白样品生理盐水及系列低浓度样品在 Roche Cobas E601 全自动电化学发光免疫检测系统进行检测, 确定该方法的空白限(LoB), 检出限(LoD)和 FS。结果 PCT 的 LoB 为 0.029 ng/mL, LoD 为 0.068 ng/mL, FS 为 0.034 ng/mL。结论 建立了 Roche Cobas E601 全自动电化学发光仪 PCT 的 LoB, LoD 和 FS, 其分析灵敏度性能指标符合厂商提供的性能指标。为临床诊断和治疗提供了更有价值的信息。

关键词:降钙素原; 电化学发光免疫测定; 空白限; 检出限; 功能灵敏度
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.047 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)20-2539-03

降钙素原(PCT)作为具有全身反应的细菌感染的指标, 可以判断感染的严重程度、治疗效果和预后, 因此在许多临床领域已得到广泛应用^[1]。为了保证患者检验结果的可靠性, 为临床提供更好的参考价值。本研究参考了美国临床与实验室标准化协会(CLSI)EP-15A2 文件和 EP-17A 文件对 Roche Cobas E601 全自动电化学发光仪 PCT 检测的精密度的评价^[2-3], 旨在确立其空白限(LoB)、检出限(LoD)和功能灵敏度(FS)。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 Roche 公司 Cobas E601 全自动电化学发光分析仪及配套 PCT 检测试剂盒(批号:162192), 配套校准品(批号:162192)及两个水平质控品(批号:161953、161954), 耗材由罗氏公司原装配套提供。

1.2 方法 按操作说明书要求每天对仪器进行维护保养、质

量控制, 并执行定期校准, 仪器在控后方可检测样品。

1.2.1 LoB 的确定 生理盐水作空白样品, 每天检测 2 批, 每批检测 6 次, 共进行 5 d, 共获得 60 个结果。设定 $\alpha=5\%$, 即 LoB 有 5% 的可能性含有待测物。采用非参数检验, 将空白样品的结果由小到大排序, 第 95 百分位数值即为 LoB。

1.2.2 LoD 的确定 参照 CLSI EP-17A 文件, 在确定 LoD 时, 样本检测的标准差来自多个低浓度样品的重复检测, 样品的浓度范围在 LoB 的 1~4 倍之间。因此收集 PCT 浓度分别为 0.03、0.04、0.05、0.06、0.08、0.10 ng/mL 的新鲜患者血清标本足量, 要求外观澄清, 无溶血、黄疸、脂血, 离心后取上清液分装 10 管, 置 -70℃ 冰箱冰冻保存, 用以确定 LoD 和 FS。所有检测限样品每天静置复融时间一致且在 30 min 内完成检测。每天各检测 1 批, 每批检测 2 次, 共进行 5 d, 共获得 60 个

* 基金项目:广东省医学科研基金课题(A2009763);中山市科技局资助课题(20091A038)。 [△] 通讯作者, E-mail: zxm0760@163.com。

结果。LoD 是为了强调Ⅱ类错误,设定 $\beta=5\%$,即 LoD 有 5% 的可能性不含有待测物,95% 的测量结果超过 LoB。采用非参数估计 LoD, $LoD=LoB+Ds\beta$ 。Ds β 是低浓度样品测定值中位数的值和低浓度样品的第 5 个百分位数值的间距。

1.2.3 FS 的确定 分别计算以上 6 个低浓度样品测定结果的平均值、标准差,和变异系数(CV)。FS 选用日间重复 CV 为 20% 时的检测物平均浓度。

2 结 果

2.1 LoB 结果 采用非参数检验 将空白样品的结果由小到大排序,第 95 百分位数值即为 LoB。依据大小排列的空白样品检测数值,第 95 百分位数所在位置为 $[NB(95/100)+0.5]$,式中 NB 是重复检测的次数。根据公式得出第 95 百分位数为第 57.5 位数。空白样品检测结果排序后第 51~60 位的数值,见表 1。第 57.5 的结果为 0.029 ng/mL。即 LoB 为 0.029 ng/mL。

表 1 空白样品第 51~60 位数值

秩号	空白值(ng/mL)
51	0.026
52	0.026
53	0.026
54	0.027
55	0.027
56	0.028
57	0.029
58	0.029
59	0.031
60	0.033

2.2 LoD 结果 0.03、0.04、0.05、0.06、0.08、0.10 ng/mL,6 个低浓度样品测定结果共 60 个,将所有结果由小到大排序,第 1~10 位和第 26~35 位结果,见表 2。根据公式 $LoD=LoB+Ds\beta$ 。Ds β 是中位数值和第 5 个百分位数值的间距。中位数值所在位置为 $[N(50/100)+0.5]$,即第 30.5 位置结果,第 5 百分位数值所在位置为 $[N(5/100)+0.5]$,即为第 3.5 位置结果。Ds β =第 30.5 位的结果-第 3.5 位的结果=0.062-0.023=0.039(ng/mL),故 $LoD=LoB+Ds\beta=0.029+0.039=0.068(ng/mL)$ 。

表 2 低浓度样品第 1~10 位和第 21~30 位结果

秩号	数值(ng/mL)	秩号	数值(ng/mL)
1	0.022	26	0.056
2	0.022	27	0.059
3	0.023	28	0.059
4	0.023	29	0.059
5	0.023	30	0.061
6	0.026	31	0.063
7	0.026	32	0.063
8	0.029	33	0.063
9	0.029	34	0.064
10	0.029	35	0.064

2.3 FS 结果 分别计算 6 个低浓度样品测定结果的平均值、标准差,CV,见表 3。按照 PCT 的检测不精密度 $CV\leq 20\%$ 的要求,在浓度为 0.034 ng/mL 下,日间 CV 为 19.7%,最接近于 20%,故 FS 的结果为 0.034 ng/mL。

表 3 6 个低浓度样品测定结果的平均值(ng/mL)、标准差(ng/mL)、CV(%)

PCT	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6
平均值	0.030	0.034	0.054	0.065	0.079	0.108
标准差	0.0087	0.0067	0.0053	0.0033	0.0032	0.0028
CV	29.0	19.7	9.81	5.1	4.1	2.6

3 讨 论

为规范医学实验室工作,提高检验质量,国际标准化组织(ISO)于 2003 年颁布的《医学实验室质量和能力的专用要求》(ISO15189)和我国 2006 年颁布的《医疗机构临床实验室管理办法》均要求实验室应对设备、检测系统或方法的主要分析性能进行验证或确认,证实其能够达到所要求的性能标准,才可将分析系统用于常规工作^[4-6]。精密度是检测系统的主要分析性能之一,更是其他性能评价的基础。本实验前期已对精密度进行评价,总不精密度小于 1.21%,低于厂商声明的不精密度。在此基础上本实验对分析灵敏度进行评价。本实验严格按照 EP-17A 文件,建立了 Roche Cobas E601 检测系统检测 PCT 的 LoB 为 0.029 ng/mL,LoD 为 0.068 ng/mL 和 FS 为 0.034 ng/mL。本实验得出的 FS 为 0.04 ng/mL 优于厂商给出的 0.06 ng/mL。鉴于厂商给出的检测低限(LLD)研究方法和统计方法均与本实验采用 EP-17A 文件建立 LoB 和 LoD 的方法差异较大,故难以比较。

目前大多数试剂厂商和实验室只按常规方法检测得出 LLD,本实验参照 EP-17A 文件规定的评价方案得出的 LoB、LoD 和 FS 相对常规方法有很多优势^[7]:样品重复检测的次数多,结果更可靠;可根据实验数据分布选择参数或以非参数程序确定 LoB、LoD;可直接使用检测出的分析物浓度进行计算,而不用使用原始的分析信号进行计算,更符合实验室的实际情况。综上所述,用 EP-17A 文件建立 LoB、LoD 和 FS 是评价检测系统灵敏度性能的标准方法。但在实验过程中也发现该文件有一定的局限性。如确定 LoD 时,选择检测限样品浓度范围要求在 LoB 的 1~4 倍之间,但是并未规定具体的浓度间距,而不同的间距得到的 LoD 存在差异,使得结果很难统一。另外确定 FS 的关键是实验的不精密度,目前没有相关文件类似“临床化学实验室室心衰标志物指南”对 NT-proBNP 测定不精密度 $CV\leq 10\%$ 的要求对 PCT 检测不精密度作出具体规定^[8],而厂商以及国外报道均采用 CV 为 20% 的 FS 作为 PCT 的灵敏度,本实验为了验证其灵敏度性能也采用 CV 为 20% 时的 FS。但是 PCT 作为急诊项目,对于临床监测感染以及指导用药都有十分重要的作用^[9]。笔者认为 PCT 采用最大允许不精密 20% 来确定 FS 不符合临床需求,结合临床实际及本实验室质量目标等多方面考虑,建议功能灵敏度选用 CV 为 10% 时的检测物浓度。本实验 CV 为 10% 时的 FS 为 0.054 ng/mL。

参考文献

[1] Gilbert DN. Use of plasma procalcitonin levels as an adjunct to clinical microbiology[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(7): 2325-

9232.

[2] CLSI. EP-15A2 User demonstration of performance for precision and accuracy[S]. CLSI, 2004.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP-17A Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.

[4] 张秀明, 郑松柏, 庄俊华, 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.

[5] 王凡, 蒋红君. 电化学发光免疫分析仪检测甲胎蛋白的性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(10): 1047-1049.

[6] 李观强, 叶有玩, 万彦彬, 等. 某型号免疫分析仪甲胎蛋白分析性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13): 1502-1504.

[7] 杨有业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社出版, 2008: 142-167.

[8] Tang WH, Francis GS, Morrow DA, et, al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical utilization of cardiac biomarker testing in heart failure[J]. Clin Biochem, 2008, 41(4/5): 210-211.

[9] Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future[J]. BMC Med, 2011, 9(1): 107.

(收稿日期: 2012-04-23)

• 检验仪器与试剂评价 •

3 种肌钙蛋白 I 试剂在自动生化仪上的分析性能验证

陈浩全¹, 曾嫚妮²

(1. 广西玉林市骨科医院检验科, 广西玉林 537000; 2. 广西玉林市第一人民医院检验科, 广西玉林 537000)

摘要:目的 对 3 种应用于自动生化分析仪的胶乳增强免疫比浊法检测血肌钙蛋白 I(cTnI)试剂进行分析性能验证, 并初步应用于临床。方法 参考 CLSI EP6-A、EP15-A、EP7-P 方案对 3 种方法的精密度、线性范围、干扰因素(胆红素、血红蛋白、乳糜)进行评估, 并与美国贝克曼库尔特公司生产的化学发光免疫分析仪及配套试剂进行比对。参考 CLSI C28-A2 方案对试剂 A、B、C 的参考范围进行验证, 评估试剂 A、B、C 与贝克曼 ACCESS2 化学发光免疫分析仪判定 cTnI 异常的一致率。结果 试剂 A、B、C 的 CV 批内、CV 总均小于试剂盒声明不精密度, 定量测定下限可分别达 0.11、0.23、0.07 ng/mL, 基本满足检测要求, 线性范围分别为 0.12~26.3 ng/mL($r=0.994$), 0.20~25.3 mg/L($r=0.997$), 0.10~26.9 mg/L($r=0.999$), 线性相关均良好。胆红素、血红蛋白、乳糜浊度分别不超过 684 $\mu\text{mol/L}$ 、3.88 g/L 及 1 240 FTU 时, 对试剂 A 检测结果无显著干扰, 试剂 B、C 后两项数值较试剂 A 高。乳糜血清标本高速离心后, 试剂 A、B、C 测定 cTnI 浓度较离心前的平均偏倚分别为 -7.31%、1.42%、1.02%。试剂 A、B、C 与 ACCESS2 化学发光免疫分析仪检测结果具有较好相关性和一致性。结论 应用于自动生化分析仪的 3 种胶乳增强免疫比浊法测定 cTnI 试剂盒, 具有较高的精密度和灵敏度, 与 ACCESS2 化学发光免疫分析仪结果相关良好; 可满足临床测试要求。但抗干扰能力存在差异, 部分试剂参考范围也有待进一步验证。

关键词:肌钙蛋白 I; 指示剂和试剂; 胶乳增强免疫比浊法; 参考值
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.048 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)20-2541-03

肌钙蛋白是心肌组织的 1 种特有调节蛋白^[1]。肌钙蛋白 I(cTnI)是 1 种分布在心肌细胞内的蛋白, 肌钙蛋白复合物由 3 个亚单位组成: cTnC、cTnT、cTnI。cTnC 是钙离子结合位点, cTnT 能结合原肌球蛋白, cTnI 是抑制性亚单位^[2], 可抑制肌球蛋白与肌动蛋白结合, 调节心肌的收缩。cTnI 比 cTnT 特异性高^[3], 且在 AMI 早期, cTnI 水平变化幅度比 cTnT 大, 显示出较高的敏感性^[4]。cTnI 作为心肌细胞损伤敏感性和特异性最强的标志物之一, 是公认的判断 AMI 患者心肌细胞损伤、危险分层和反映其预后的主要生化标志, 所以 cTnI 可作为心血管疾病有价值的诊断指标^[5-6]。cTnI 测定方法很多, 化学发光法一般成本较高, 需要特定的化学发光免疫分析仪, 测试速度相对较慢, 不利于广泛应用, 而胶乳增强免疫比浊法用于一般生化仪即可测定, 操作简便, 具有更广阔的推广空间。本室在 HITACHI7180 自动生化仪上对 3 种胶乳增强免疫比浊法 cTnI 试剂盒的精密度、线性范围、灵敏度、抗干扰能力、参考范围验证等性能进行评价, 并与美国贝克曼库尔特公司的化学发光免疫分析仪 ACCESS2 进行了方法学比对, 结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源 (1)精密度验证混合血清: 将已知 cTnI 浓度的患者血清混合, 制备高、低浓度(约 11.01 ng/mL 和 1.03 ng/mL)两份混合血清, 各分装 20 份于 -20℃ 冻存用于精密度试验。(2)干扰试验血清: 收集高、低 cTnI 浓度两份患者混

合血清(约 6.01 ng/mL 和 0.65 ng/mL)用于干扰试验。(3)乳糜干扰血清: 留取 2011 年 6 月肉眼观察明显呈乳糜状态的门诊患者血清 36 份, 用于临床患者的乳糜血清标本对 cTnI 的干扰试验。(4)比对血清: 从 2011 年 6 月门诊患者血清标本中选取 90 份(其中 30 份来自心内科就诊的已明确诊断的患者), 用于 3 种胶乳增强免疫比浊法试剂与化学发光免疫分析仪比对及判断 cTnI 符合率初步评估。(5)参考范围验证血清: 参照 CLSI28-A2 文件^[7], 从 2011 年 6 月体检人群中选取肝功能正常的健康者 120 例, 其中男 60 例, 女 60 例, 年龄 20~83 岁, 用于参考范围验证试验。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 HITACHI7180 全自动生化分析仪, Beckman Coulter 公司生产的化学发光免疫分析仪 ACCESS2。

1.2.2 试剂 试剂 A: 宁波美康; 试剂 B: 太原川至; 试剂 C: 四川迈克。化学发光试剂由 Beckman Coulter 公司提供。各公司的配套校准品。国际试剂株式会社出品的干扰物(批号 79371, 其中: 游离胆红素 3 300 $\mu\text{mol/L}$, 结合胆红素 3 403 $\mu\text{mol/L}$, Hb 4 850 mg/dL, 乳糜浊度 15 500 FTU)。日本第一化学药品株式会社出品的 TG(批号: 808RIG/812RKG)。

1.3 方法

1.3.1 精密度评价 依据 CLSI EP15-A 文件所提供方案^[8], 用 3 种试剂分别测定高、低 2 个水平(cTnI 浓度约 11.01 ng/