

[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(12): 1332-1335.
 [8] 栾桂红. 法国 STAGO 全自动血液凝固仪评价[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(1): F3-F4.
 [9] 郝建华, 吕斌斌, 高旭红, 等. Stago Compact 型血液凝固分析仪的抗干扰功能[J]. 国外医学: 临床生物化学与检验学分册, 2002, 23(3): 185-186.

[10] 陈云峰, 葛亮, 曹慧玲, 等. STAGO-R 血凝仪检测纤维蛋白原结果可报告范围的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 859-860.

(收稿日期: 2012-09-12)

• 检验仪器与试剂评价 •

雅培 i4000 化学发光分析仪肝炎标志物分析性能评价

陆捷, 吴士及, 殷波涛[△], 管青

(华中科技大学附属同济医学院附属同济医院检验科, 湖北武汉 430030)

摘要:目的 评价美国雅培 i4000 化学发光微粒子免疫分析仪(CMIA 分析仪, 简称 i4000 分析仪)对肝炎血清标志物的分析性能。方法 使用 i4000 分析仪进行 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 及抗 HCV 检测, 根据美国临床和实验室标准化协会颁布的 EP 系列文件对仪器分析性能进行评价。结果 i4000 分析仪模块一及模块二检测上述 6 个项目的批内及批间不精密度(CV%)均符合厂商要求; 模块一检测 HBsAg 的线性范围为 0.04~286.18 IU/mL($r^2=0.9662$), 模块二线性范围为 0.04~259.3 IU/mL($r^2=0.9768$); 模块一检测 HBsAb 线性范围为 0.18~1016.39 mIU/mL($r^2=0.9857$), 模块二线性范围为 0.28~1055.67 mIU/mL($r^2=0.9870$)。HBeAb 检测临界值标本稀释度为 1:59.65, (临界值±20%)标本阳性、阴性结果出现频率均大于 0.95。雅培 i2000 分析仪与 i4000 分析仪模块一、二 HBsAg 检测结果 r^2 值分别为 0.9910、0.9961, HBsAb 检测结果 r^2 值分别为 0.9835、0.9891。ELISA 与 CMIA 检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 及抗 HCV 结果符合率为 100%。HBeAg、HBeAb、HBcAb 及抗 HCV 检测下限分别为 0.33、3.6、0.95、0.7 NCU/mL。结论 i4000 分析仪检测肝炎血清标志物的精密性、线性范围、临界值重复性、比对结果、检测下限均达到要求, 能满足临床需求。

关键词: 化学发光法; 肝炎血清标志物; 性能验证

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.01.046

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)01-0093-03

酶联免疫吸附法(ELISA)可用于肝炎血清标志物(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 及抗 HCV)初筛检测, 而化学发光法(CLIA)的应用也越来越广泛。笔者按美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP 系列文件^[1-4]的要求, 对 i4000 化学发光微粒子免疫分析仪(CMIA 分析仪, 简称 i4000 分析仪)进行性能验证, 并探讨相同及不同方法学不同仪器及相同仪器不同模块间检测结果的一致性。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 680 型酶标仪(美国 BIO-RAD), i2000CMIA 分析仪(简称 i2000 分析仪), i4000 分析仪及配套肝炎血清标志物检测试剂(美国 Abbott), HBV 血清标志物 ELISA 检测试剂(厦门新创)、HCV 血清标志物 ELISA 检测试剂(上海科华), HBsAg 标准物质 GBW(E)(批号 090068, 0.2 IU/mL)、HBsAb 标准物质 GBW(E)(批号 090125, 30 mIU/mL)、HBeAg 标准物质 GBW(E)(批号 090149, 2 NCU/mL)、HBeAb 标准物质(批号 201005001, 4 NCU/mL)、HBcAb 标准物质 GBW(E)(批号 090127, 1 NCU/mL)及抗 HCV 标准物质 GBW(E)(批号 090073, 1 NCU/mL)均购自北京康彻思坦生物公司。所有试剂及标准物质均在有效期内使用。

1.2 方法 每日对仪器进行保养, 且质控品检测结果均在控制范围内。采用 ELISA 和不同 CMIA 分析仪检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 及抗 HCV, 严格按仪器及试剂说明书进行实验操作。

1.2.1 精密性实验 将弱阳性和强阳性血清标本分为两个批次, 使用 i4000 分析仪进行检测, 每个批次每日检测 2 次, 连续检测 20 d, 剔除离群值后计算批内和批间不精密度(CV%), 评价方案按 EP5-A2 进行。

1.2.2 线性实验 HBsAg、HBsAb 线性实验参照 EP6-A2。

选择高于仪器检测上限的标本, 用阴性血清进行稀释, 以原始标本为 1, 按照 0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1 进行稀释, 0.1 以下对倍稀释, 直至检测值低于仪器检测下限, 计算相关指数(r^2)是否大于 0.95。

1.2.3 HBeAb 临界值重复性验证 按照 EP12-A 的要求, 将 1 例强阳性标本进行系列稀释, 重复检测, 确定检测结果为 50%阳性和 50%阴性的稀释标本浓度, 再制备分别高于及低于此浓度 20%的标本, 分别重复检测 20 次。

1.2.4 比对实验 选择 40 个浓度覆盖仪器线性范围的标本, 按 EP9-A2 进行 i2000 及 i4000 分析仪 HBsAg、HBsAb 定量检测比对; 另选择患者血清标本进行 i4000 分析仪及 ELISA 定性检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb、抗 HCV 结果比对, 计算结果符合率。

1.2.5 检测下限 选择定值标准物质, 按不同比例用阴性血清标本进行稀释和检测, 计算阳性结果标本的最大稀释度及其对应浓度值。

2 结果

2.1 i4000 分析仪精密性验证结果 (1)批内精密性: 肝炎血清标志物在 i4000 分析仪两个模块中的批内不精密度(CV%)均小于 10%; HBeAb 强阳性标本检测结果均为 0.02, 因此其在两个模块中的批内变异系数(CV%)均为 0.00%, 见表 1。(2)批间精密性: i4000 分析仪检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 和抗 HCV 的批间标准差分别为 0.011 IU/mL、0.280 mIU/mL、0.066 NCU/mL、0.001 NCU/mL、0.030 NCU/mL 和 0.190 NCU/mL, 批间不精密度(CV%)分别为 5.23%、1.31%、1.70%、6.08%、2.62% 和 7.03%, 均小于 7.5%。

[△] 通讯作者, E-mail: gsybt001851@yahoo.com.cn.

表 1 i4000 分析仪两个模块批内精密验证结果(标准差/变异系数*)

标本	HBsAg		HBsAb		HBeAg		HBeAb		HBcAb		抗 HCV	
	模块一	模块二	模块一	模块二	模块一	模块二	模块一	模块二	模块一	模块二	模块一	模块二
弱阳性	0.22/8.86	0.18/7.52	0.68/3.00	1.47/6.11	0.37/2.93	0.38/3.12	0.03/4.90	0.02/4.15	0.06/1.97	0.07/2.37	0.38/6.34	0.24/4.20
强阳性	5.50/4.38	7.59/5.70	15.28/2.84	17.73/3.09	2.14/1.66	2.91/2.38	0.00/0.00	0.00/0.00	0.15/1.56	0.19/2.15	0.43/3.14	0.43/3.17

*: HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 及抗 HCV 检测标准差单位分别为 IU/mL、mIU/mL、NCU/mL、NCU/mL、NCU/mL 及 NCU/mL, 检测变异系数单位均为 %。

2.2 i4000 分析仪 HBsAg、HBsAb 检测线性范围分析 HBsAg 模块一检测线性 $r^2=0.9662$ 、回归方程 $Y=7851.4X+68254$; 模块二线性 $r^2=0.9768$ 、回归方程为 $Y=7843X+61633$ 。HBsAb 模块一线性 $r^2=0.9857$ 、回归方程为 $Y=1150.2X+24422$; 模块二线性 $r^2=0.9870$ 、回归方程为 $Y=1046.1X+23580$ 。

2.3 i4000 分析仪 HBeAb 检测临界值重复性验证 1:59.65 稀释标本检测结果为 50% 阳性、50% 阴性, 高于此浓度 20% 的标本重复检测 20 次, 阳性结果出现频率大于 0.95, 低于此浓度 20% 的标本重复检测 20 次, 阴性结果出现频率大于 0.95。

2.4 比对结果 (1)i2000 及 i4000 分析仪 HBsAg 检测比对结果: 模块一 $r^2=0.9910$ 、回归方程为 $Y=1.0128X+0.5551$; 模块二 $r^2=0.9825$ 、回归方程为 $Y=1.0301X+1.9266$ 。(2)i2000 及 i4000 分析仪 HBsAb 检测比对结果: 模块一 $r^2=0.9835$ 、回归方程为 $Y=1.0463X+12.4$; 模块二 $r^2=0.9779$ 、回归方程为 $Y=1.1404X+4.4604$ 。(3)ELISA 与 i4000 分析仪 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 及抗 HCV 定性检测比对符合率为 100%。

2.5 i4000 分析仪检测下限分析 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 及抗 HCV 标准物质最大稀释度阳性标本对应浓度, 即仪器检测下限分别为 0.05、15.0 mIU/mL 及 0.33、3.6、0.95、0.7 NCU/mL。

3 讨论

中国是 HBV、HCV 感染高发国家, 且感染率逐年增加^[5-6]。随着肝炎血清标志物检测方法学的发展及检测系统的更新, 临床对检测系统的性能要求也越来越高。CLIA 联合应用化学发光技术及免疫学反应, 可用于微量抗原或抗体检测^[7]。i4000 分析仪采用 CMIA 技术, 与 ELISA 技术相比, 具有灵敏度高、特异性强、快速、稳定、易于自动化等优点, 然而必须对其进行性能验证以判断其检测性能是否满足临床需求。

精密度反映检测结果的重复性, EP5-A2 要求采用较长的周期进行仪器精密度评价, 从而客观、真实地反映仪器长期的工作性能。本研究结果显示, i4000 分析仪检测批内和批间不精密度(CV%)均符合厂商要求(14%), 说明仪器检测重复性好, 结果稳定。类似研究结果显示, 与 ELISA 相比, CMIA 检测结果的重复性更好, 具有更高的灵敏度和特异性, 且雅培 CMIA 分析仪检测感染性疾病血清学指标的不精密度(CV%)小于 10%^[8-10]。

标本中被测物质的浓度在仪器检测线性范围内时, 所测结果是可信的, 即更接近于被测物质的真值。邹麟等^[9]评价了 i2000 分析仪检测 HBsAg 及 HBsAb 的线性范围, r^2 均大于 0.998, 但未对检测线性范围外的标本浓度进行描述。本研究在 HBsAg、HBsAb 检测线性范围评价实验中, 对超出仪器检测范围的高值标本进行了稀释, 稀释标本检测结果具有较好的线性, 说明对高值标本进行合理预处理, 可保证获得较高可信度的检测结果。

对于定性实验而言, 临界值是唯一的医学决定水平。对被

测物质浓度处于临界值水平的标本进行重复检测时, 出现阳性和阴性结果的概率均为 50%, 因此接近临界值水平的标本定性检测有可能出现完全相反的结果。EP12-A2 是针对定性实验性能评价的指南文件, 该文件指出: 定性实验对浓度在(临界值±20%)以外的标本检测结果应一致^[3]。本研究结果显示, i4000 分析仪对 HBeAb 浓度在该范围以外的标本定性检测结果是稳定一致的。

保证检测结果的一致性为实验室管理中实现质量目标的重要依据, 亦即对同一份标本进行相同项目检测, 不同检测方法所获得的结果应相互符合。本研究按 EP9-A2 文件对 i2000 及 i4000 定量检测 HBsAg、HBsAb 的结果进行比对分析, 结果二者相同模块间检测结果 r^2 值均大于 0.95, 说明二者定量检测 HBsAg、HBsAb 具有较好一致性。然而, 国内外的类似研究发现不同厂商的检测系统 HBsAb 定量检测结果符合率仅为 91.6%, 且差异主要出现在低浓度标本检测结果^[11-12]。本研究结果显示, ELISA 与 CMIA 对 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb、抗 HCV 的定性检测结果具有较好的一致性。类似研究报道二者检测结果的符合率为 80%~95%^[13-15], 低于本研究中的符合率, 其原因可能在于二者不相符的结果主要出现在临界值浓度标本, 阳性及阴性标本检测结果具有较高的符合率, 而本研究未选用临界值附近的标本。大量研究显示, CIMA 对临界值标本的检出率及结果准确性均优于 ELISA^[13-18]。由此可见, ELISA 与 CMIA 对临界值标本的检测结果显示存在差异, CMIA 定量检测结果能更好地用于患者疗效及病情监测和疫苗接种效果评价; 二者均能满足临床需要, 但就方法学和自动化程度而言, CMIA 优于 ELISA, ELISA 更适用于初筛实验。本研究显示, i4000 分析仪对 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 和抗 HCV 的检测下限分别为 0.05 IU/mL、15 mIU/mL、0.33 NCU/mL、3.6 NCU/mL、0.95 NCU/mL、0.7 NCU/mL, 均能满足临床需求。

感染性疾病血清标志物检测系统应具有较高诊断灵敏度、特异性及阳性预测值(PPV)。本研究结果显示, i4000 分析仪抗 HCV 检测真阳性率大于 78.4%, PPV 为 95.4%, 而 HBsAg 检测 PPV 为 96.3%, 且 HBsAg 检测假阳性结果标本浓度范围为 0.05~0.1 IU/mL, 说明低值阳性标本(抗 HCV S/CO<5; HBsAg<0.1 IU/mL)检测假阳性率较高(抗 HCV 为 90.5%, HBsAg 为 85.7%)^[16-17]。国内外对雅培公司肝炎诊断系统的诊断灵敏度评价研究显示, 其具有很高的诊断灵敏度, 可明显缩短感染后的检测窗口期^[18-21], 且对不同基因型及突变病毒株具有较高的检测性能^[22-23]。

i4000 分析仪可同时进行双模块检测, 理论上二者对同一标本相同项目的检测是一致的, 但实际应用中仍存在一定的偏差。本研究未发现两个模块间存在明显的性能差别, 但在某些性能方面存在细微差别, 例如模块二检测 HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 的批内精密度略小于模块一, 而 HBsAg、抗 HCV 检测批内精密度低于模块一, 且模块二具有更高的 HBsAg、HBsAb 检测线性相关性, 可能与试剂存放时间不同或操作环境等因素有关。因此, 综合分析不同模块性能评价结果,

有利于使检测项目的模块化更为合理,从而达到最好的检测性能。总而言之,两个模块对肝炎血清标志物的检测性能均符合临床要求,且优于 ELISA。

参考文献

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2004.

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2002.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP12-A User protocol for evaluation of qualitative test performance[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2002.

[4] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2003.

[5] 中华医学会肝病学会中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年更新版)[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2011, 5(1): 79-100.

[6] 中华肝病学会、中华传染病学会. 丙型肝炎防治指南[J]. 中华传染病杂志, 2004, 22(2): 131-136.

[7] 陈海斌. 化学发光免疫分析技术极其发展[J]. 中国医学装备, 2011, 8(5): 56-57.

[8] 章震花, 张晓凤, 赵丽敏. 化学发光酶免疫分析法检测丙型肝炎抗体的临床评价[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(4): 422-423.

[9] 邹麟, 张莉萍, 夏吉蓉, 等. 全自动免疫分析仪 ARCHITECT i2000 检测 HBV 血清标志物性能评价[J]. 重庆医学, 2010, 39(24): 3353-3354.

[10] Li ZY, Yan CL, Yan R, et al. Analytical performance of the Abbott Architect i2000 tacrolimus assay in Chinese patients after renal transplantation[J]. Transplant Proc, 2010, 42(10): 4534-4537.

[11] Kim H, Oh EJ, Kang MS, et al. Comparison of the Abbott Architect i2000 assay, the Roche Modular Analytics E170 assay, and an immunoradiometric assay for serum hepatitis B virus markers[J]. Ann Clin Lab Sci, 2007, 37(3): 256-259.

[12] Chen Y, Wu W, Li LJ, et al. Comparison of the results for three

automated immunoassay systems in determining serum HBV markers[J]. Clin Chim Acta, 2006, 372(1/2): 129-133.

[13] 谭璐. 化学发光微粒子免疫分析法与酶联免疫法测定乙肝标志物的比较[J]. 实用学杂志, 2008, 15(3): 294-295.

[14] 郭洪, 张学英, 郭丽娟. i2000 化学发光分析仪检测乙型肝炎病毒标志物的应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(6): 1276-1277.

[15] 杨凡, 单咏梅, 周宏, 等. 不同方法学检测乙型肝炎血清标志物结果的评价分析[J]. 检验医学, 2010, 25(9): 732-724.

[16] Wu SJ, Liu YL, Cheng LM, et al. Clinical evaluation of the signal-to-cutoff ratios of hepatitis C virus antibody screening tests used in China[J]. J Med Virol, 2011, 83(11): 1930-1937.

[17] Peng J, Cheng LM, Yin BT, et al. Development of an economic and efficient strategy to detect HBsAg: Application of "gray-zones" in ELISA and combined use of several detection assays[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(23/24): 2046-2051.

[18] 高志峰, 胡丽华, 雒维. 两种方法检测患者血清中丙肝抗体的对比分析[J]. 临床血液学杂志, 2011, 24(8): 456-457.

[19] 汤巧, 吴文静, 夏永祥. 化学发光法和酶联免疫吸附法检测丙型肝炎病毒抗体的比较分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 6(8): 834-835.

[20] Popp C, Krams D, Beckert C, et al. HBsAg blood screening and diagnosis: performance evaluation of the ARCHITECT HBsAg qualitative and ARCHITECT HBsAg qualitative confirmatory assays[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 70(4): 479-485.

[21] Pfeifer K, Pelzer C, Coleman P, et al. Early detection of hepatitis B surface antigen—prototype of a new fully automated HBsAg microparticle enzyme immunoassay (MEIA) [J]. Clin Lab, 2003, 49(3/4): 161-166.

[22] Sonneveld MJ, Rijckborst V, Boucher CA, et al. A comparison of two assays for quantification of Hepatitis B surface Antigen in patients with chronic hepatitis B[J]. J Clin Virol, 2011, 51(3): 175-178.

[23] Lou SC, Pearce SK, Lukaszewska TX, et al. An improved Abbott ARCHITECT assay for the detection of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) [J]. J Clin Virol, 2011, 51(1): 59-63.

(收稿日期: 2012-09-23)

(上接第 83 页)

是在感染早期病变细胞较少时及白细胞内部分膜结构尚未溶解时。部分无症状携带者阴道分泌物标本中的支原体仅存在于细胞外, 导致超高倍显微镜检测结果为阴性, 而该部分标本培养法检测结果为阳性, 导致超高倍显微镜法检测阳性率低于培养法。因此, 当培养法检测结果为阳性, 而超高倍显微镜法检测结果为阴性时, 应综合考虑患者临床表现。

参考文献

[1] 彭慧兰, 曹来英, 魏敏. 孕妇与不孕症妇女解尿支原体、沙眼衣原体的研究[J]. 第四军医大学学报, 2005, 26(1): 64-66.

[2] 陈东科, 孙长贵. 实用临床微生物学检验与图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 554-555.

[3] 周庭银. 临床微生物学诊断与图解[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2007: 289-293.

(收稿日期: 2012-07-08)

[4] 丛玉隆, 尹一兵, 陈瑜. 检验医学高级教程[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 923-924.

[5] 黄朝军, 王丰, 刘志辉. 不孕妇女生殖道衣原体的感染分析[J]. 江南大学学报: 自然科学版, 2003, 2(1): 15-16.

[6] 刘长德, 张艳, 殷敏, 等. 超高倍显微诊断仪在泌尿生殖道支原体衣原体快速检查中的临床应用[J]. 中国实验诊断学, 2008, 11(11): 1433-1434.

[7] 刘淑贤, 贾向新, 张辉, 等. 超高倍显微镜在泌尿生殖道支原体衣原体感染检测中应用[J]. 中国厂矿医学, 2008, 2(21): 20-21.

[8] 王金良. 超高倍镜下形态学检查可以确定衣原体、支原体吗[J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(2): 81.

[9] 吕宜华, 杨靖庆. 超高倍显微镜与培养法检测生殖道支原体感染的对比分析[J]. 实用医技杂志, 2004, 5(11): 727.