

2.2 未分离血清血浆与细胞层时, Hcy 随时间的变化在 2~8℃ 冰箱中, 未分离血清血浆与细胞层的样本, 其中 Hcy 浓度在 0、1、2、3、4、5、6、24(1 d)、48(2 d)、168 h(7 d) 的结果如图 1~2。

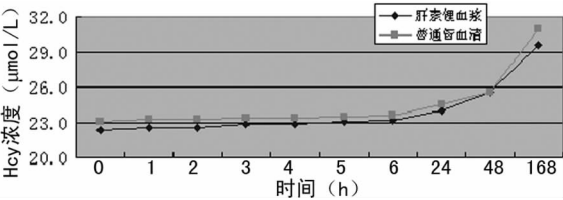


图 1 Hcy 平均浓度随时间变化图

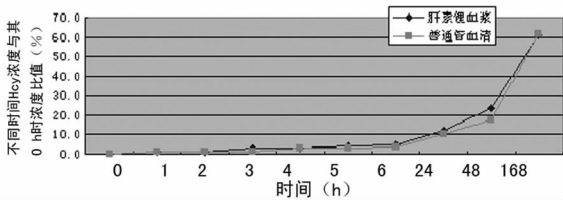


图 2 Hcy 浓度变化率随时间变化图

2.3 即使分离血清血浆与细胞层时, Hcy 随时间的变化在 2~8℃ 冰箱中, 及时分离血清与细胞层的样本, 其中 Hcy 浓度在 0 h 和 168 h(7 d) 的检测结果分别为 (14.10±4.44) μmol/L、(13.81±4.36) μmol/L, 差异均无统计学意义 (P=0.852 585)。

3 讨论

血样采集后, 由于在全血状态下, 血细胞在体外的继续代谢作用, 会使 Hcy 浓度随时间的增长而升高。室温下停留 1、4、24 h, Hcy 水平可升高, 需及时分离血浆, 尽可能减少上述原因造成的误差^[8]。本次实验证实, 在 2~8℃ 条件下, 6 h 内不分离血清血浆与血细胞层其浓度变化在 5% 之内, 放置 1 d 后其浓度变化就超过了 10%, 放置 2 h 后其浓度变化超过了 20%, 而到第 7 天的时候, 其浓度变化超过了 60%。分离血清血浆与血细胞层后, 到第 7 天时, 其浓度反而降低了 2% (由于没有血细胞中的 Hcy 释放到血清中, 在加上血清中 Hcy 的分解, 所有其浓度反而降低了一点), 且与放置 0 h 时的结果比较

• 检验仪器与试剂评价 •

差异无统计学意义 (P>0.05)。

本次实验发现了, 对于使用 EDTA-K₂ 抗凝管、肝素锂抗凝管和普通血清管所取样本 Hcy 的结果之间没有明显差异。本实验所用的 Hcy 试剂说明书所标示的样本要求为血清。通常, 血清样本中有纤维蛋白丝遗留及分离过程中血液有形成分易发生破坏等缺点^[9], 而且肝素锂等血浆能为更快速的回报检测结果提供了很多方便^[10]。

参考文献

[1] 袁玉亮. 同型半胱氨酸临床意义及检测方法[J]. 医学检验与临床, 2008, 19(3): 101-102.

[2] 李恒斌, 尚士芹. 同型半胱氨酸水平与冠心病患者冠状动脉病变程度相关性研究[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(9): 1258-1259.

[3] 荣嵘, 张爱民, 樊喜红. 血清同型半胱氨酸与冠心病患者及多项生化指标关系的分析[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(13): 77-78.

[4] Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes[J]. JAMA, 1995, 274(13): 1049-1057.

[5] Guba SC, Fink LM, Fonseca V. Hyperhomocysteinemia. An emerging and important risk factor for thromboembolic and cardiovascular disease[J]. Am J Clin Pathol, 1996, 106(6): 709-722.

[6] Shipchandler MT, Moore EG. Rapid, fully automated measurement of plasma homocyst(e)ine with the Abbott IMx analyzer[J]. Clin Chem, 1995, 41(7): 991-994.

[7] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 122.

[8] 崔秀玉, 曹美芳, 孙华, 等. 同型半胱氨酸的代谢及其临床应用[J]. 医学检验与临床, 2008, 19(5): 71-72.

[9] 周伟青. 抗凝剂在临床检验中的应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 12(24): 3403-3404.

[10] 蔡美莉. 肝素锂抗凝血浆用于生化检验分析的可行性分析[J]. 医学理论与实践, 2012, 25(6): 643-644.

(收稿日期: 2013-02-18)

两种全量程 C 反应蛋白检测试剂盒的对比研究及偏倚分析

李茂森¹, 胡治宝^{2△}

(1. 重庆市铜梁县人民医院检验科, 重庆 402560; 2. 宁波美康生物科技股份有限公司, 浙江宁波 315104)

摘要:目的 通过使用两种全量程 C 反应蛋白(CRP)试剂(贝克曼和宁波美康)进行血清样本 CRP 测定, 进行偏倚分析和结果比较。方法 依据美国国家临床实验室标准协会 EP9-A2 文件, 每天取临床样本 8 份, 分别用两种方法测定样本 CRP, 共测定 5 d, 记录检验结果, 通过方差分析、F 检验和相关性分析对两种试剂进行偏倚估计。结果 在进行患者新鲜血清样本 CRP 测定时, 两种试剂测定结果的预期相对偏倚在方法的线性范围内可以被接受, 具有良好的相关性; 在测定 ERM DA474/IFCC 时, 两种试剂测定结果的相对偏倚都小于 5%。结论 宁波美康公司和贝克曼公司两种 CRP 试剂在测定临床血清样本时, 结果具有良好的相关性。

关键词: C 反应蛋白质; 对比研究; 偏倚评估

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.10.050 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2013)10-1302-02

C 反应蛋白(CRP)是人体急性时相蛋白(APP)中最主要、最敏感的标志物之一。在临床上常作为一种检测感染过程和

△ 通讯作者, E-mail: 619223921@qq.com。

自身免疫疾病的工具,如病毒与细菌的鉴别诊断、疾病治疗监测、系统性红斑狼疮(SLE)等。曾经由于长期没有灵敏的检测手段,因此在临床上并没有受到重视。近年来,随着研究的不断深入和 CRP 检测手段的不断改善,特别是运用高敏感方法测出的超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)可作为冠状动脉疾病(CVD)的一种独立危险因素,也可作为心血管疾病和动脉硬化的预测指标^[1-3]。CRP 升高的患者,其心脏病发作、卒中、猝死及血管疾病的危险性增加^[4-5]。在处理稳定型和不稳定型冠状动脉疾病时,全量程 CRP 和超敏 CRP 具有相同效果^[6]。全量程 CRP 同时具有普通 CRP 可以检测高浓度 CRP 的优点,用于急性炎症的检测,又克服了普通 CRP 灵敏度低的缺点,所以深受医学检验人员的青睐^[7]。在过去几年中,临床实验室使用的 CRP 一般都是进口的试剂,该试剂采用的胶乳增强技术,即在具有活性官能团的特殊粒径的胶乳颗粒表面包被 CRP 抗体,与样本中的抗原发生凝集反应,反应体系浊度升高,在抗体量一定时,浊度的高低与抗原的浓度呈正相关^[8]。近年来,国内部分生产企业通过自主研发,掌握了该产品的生产技术,生产了全量程 CRP 检测试剂盒,本文研究国内生产企业-宁波美康生物科技股份有限公司生产的全量程 CRP 检测试剂盒与进口企业贝克曼(Beckman)生产的 CRP 检测试剂盒的临床样本检测结果的偏倚和准确性。

1 材料与方法

1.1 材料 采集的样本为临床患者当日血清,其浓度尽可能涉及正常值和病理值。

1.2 仪器与试剂 贝克曼 AU680 全自动生化分析仪。贝克曼 AU 系列原装试剂和宁波美康生物。CRP 国际参考品:ERM DA474/IFCC,来源于欧洲标准局。

1.3 方法 由于目前国内行业内还没有相关的指导性文件,本文作者依据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)批准的《使用患者样本进行方法比较和偏倚估计》(EP9-A2)进行两种全量程 CRP 检测试剂盒的对比研究及偏倚评估。具体方法如下:(1)每天选择 8 个临床患者样本,按 1~8 的顺序编号。用两种方法同时进行实验,按的样本按照 1~8,8~1 的顺序进行测定。记录测定结果(X_{ij} 和 Y_{ij}),计算每个样本测定结果的均值(X_i 和 Y_i),样本重复测定值间差值的绝对值(DX_i 和 DY_i)及两种方法测定结果均值间的差值($Y_i - X_i$);(2)以 Y_i 对 X_i 作散点图;以 $(Y_i - X_i)$ 对 X_i 作偏倚图,以 $(Y_{ij} - X_{ij})$ 对 X_{ij} 做偏倚图。(3)离群点的判别:检查批内离群点,计算样本重复测定间差值(DX_i 和 DY_i)的平均数,样本重复测定间差值超出该平均数 4 倍时,则判断为离群点。检查批间离群点,计算两种方法测定结果间均值差值的平均数即 $|Y_i - X_i|$,如两种方法测定结果间均值差值超出该平均数 4 倍时,则判断该样本为离群点。(4)以上实验至少重复 5 d,即至少分析 40 个不同的临床患者样本。每天实验必须进行校准和室内质控,只有在室内质控合格的情况下,当天的实验室数据才有效。(5)样本浓度应在方法的线性范围内,并覆盖医学决定水平。通常基本从线性范围的低限到线性范围的高限(应至少有 50% 的样本在参考范围以外,但在线性范围内)。分析样本的浓度应尽可能在线性范围内均匀分布。(6)将 ERM DA474/IFCC 稀释成 2 个不同水平,每天在 2 个通道分别测试该参考品,考察两种试剂各自的准确度,并于理论浓度进行比较。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft EXCEL2003 进行统计分析。

2 结果

2.1 将贝克曼(X)和宁波美康(Y)两种试剂的临床样本检测

结果做散点图,见图 1。以 $(Y_i - X_i)$ 对 X_i 作偏倚图,见图 2。

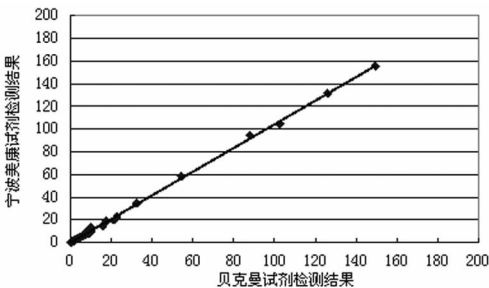


图 1 宁波美康和贝克曼 CRP 试剂相关性

2.2 将贝克曼(X)和宁波美康(Y)两种试剂的临床样本检测结果进行相关性分析, $Y=1.044\ 6X-0.278\ 6$,判定系数 $r^2=0.999\ 2$,相关系数 $r=0.999\ 6$,斜率为 1.044 6,斜率的 95% 置信区间为(1.035, 1.054),截距为 -0.278 6,截距的 95% 置信区间为(-0.665, 0.108),其中 Y 是宁波美康 CRP 试剂结果, X 是贝克曼 CRP 试剂结果。

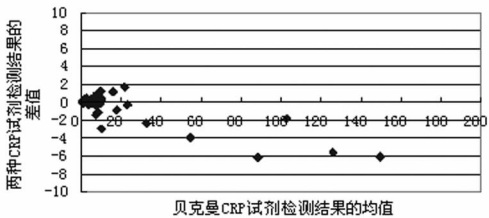


图 2 宁波美康和贝克曼 CRP 试剂检测结果的偏倚图

2.3 通过 Excel 软件进行方差分析、F 检验对回归方程进行显著性检验(线性相关性检验)。方差分析数据见表 1。

表 1 参比试剂和考核试剂检测结果方差分析数据

项目	df	SS	MS	F	Significance F
回归分析	1	52 116.65	52 116.65	47 390.78	1.91×10^{-60}
残差	38	41.789 41	1.099 721	—	—
总计	39	52 158.44	—	—	—

—:无数据。

2.4 通过国际参考物质 ERM DA474/IFCC 验证两种试剂的准确度,见表 2。

表 2 国际参考物质 ERM DA474/IFCC 准确度验证试验结果

测试	水平 1		水平 2	
	贝克曼	宁波美康	贝克曼	宁波美康
1	2.07	2.13	39.20	42.64
2	1.96	2.01	42.05	41.51
3	2.05	2.06	39.73	39.42
4	1.96	2.07	42.42	39.84
5	1.97	2.13	40.45	43.12
均值	2.002	2.08	40.77	41.306
与理论浓度的偏差	-2.82%	0.97%	-1.04%	0.26%

3 讨论

研究者采用 EP9-A2 方法评估国内企业宁波美康生物科技股份有限公司生产的 CRP 试剂和进口试剂贝克(下转插 II)

(上接第 1334 页)

推作倍比稀释,各孔加入相应效价 50 μ L 血清,再加入与其丈夫血型相同的 1%标准红细胞 A(B)悬液 50 μ L,置 37 $^{\circ}$ C 孵育器 15 min,专用离心机离心 5 min,判读结果以 1 : 64、1 : 128、1 : 256 等以此类推,红细胞完全停留在微胶柱上部的最高稀释倍数为抗体效价;追踪其出生的新生儿溶血病的发病情况。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 统计软件进行卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 2 孕妇 IgG 抗 A(B)效价与新生儿 ABO 溶血病发病率

类型	<i>n</i>	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512	1 : 1 024
IgG 抗 A	237	0(0/132)	8.7%(4/46)	20.5%(8/39)	76.5%(13/17)	100%(3/3)
IgG 抗 B	195	0(0/111)	4.9%(2/41)	13.3%(4/30)	63.6%(7/11)	100%(2/2)

3 讨 论

临床上通常把 1 : 64 作为判读异常的临界值,效价越高,新生儿溶血的机会越大,如孕妇血清 IgG 抗 A(B)抗体效价大于或等于 1 : 64,提示婴儿发生新生儿溶血病机会,当 IgG 抗 A(B)抗体效价大于或等于 1 : 128 时,提示婴儿可能受害^[5],IgG 抗 A(B)抗体效价大于或等于 1 : 512 时,几乎 100%发病^[6],此法的灵敏度较高,有报道将微柱凝胶法孕妇 IgG 抗 A(B)抗体效价大于或等于 1 : 256 作为预警值^[7];本院对 IgG 抗 A(B)抗体效价大于或等于 1 : 128 的所有孕妇,给予服用茵陈汤等^[8]治疗,并且监测其效价是否降低或得以控制,以保护胎儿正常生长发育,避免新生儿溶血病的发生。

因此,对孕妇血清 IgG 抗 A(B)效价的检测,便于早诊断、早治疗,有效地减少新生儿溶血病的发生;微柱凝胶技术操作简单快捷,易于观察,试验结果可长期保存,并可以拍照保存图谱^[9],且该技术标本和试剂用量少,结果易于标准化,减少了操作者主观因素的影响,检测孕妇 IgG 抗 A(B)抗体效价,检测的灵敏度明显高于凝聚胺和传统抗人球蛋白法^[10-11],值得推广应用。

参考文献

[1] 张钦辉. 临床输血学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000:97-100.

(上接第 1303 页)

曼 AU 配套 CRP 试剂检测临床样本结果的相关性和偏倚程度,实验结果表明两种试剂的检测结果具有良好的相关性。通过国际国际参考物质 ERM DA474/IFCC 验证两种试剂的准确性,结果表明两种试剂都有很好的准确性,溯源性好。目前,由于过去工作中形成的习惯,很多医院检验科还是在使用进口原装的与全自动生化分析仪配套的试剂,其实这些进口试剂的成本一般都会高于国产试剂的成本,在检验科考核中没有优势。如果通过严密的试验进行过验证,国产试剂在具体性能指标方面不亚于进口试剂,医院检验科可以考虑使用国产试剂,这也有利于实现民族企业和医疗卫生部门互利共赢之局面。

参考文献

[1] Du Clos TW. Function of C-reactive protein[J]. Ann Med,2000,32(4):274-278.
[2] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease[J]. N Engl J Med,1999,340(2):115-126.
[3] Zhang YX,Cliff WJ,Schoeffl GI,et al. Coronary C-reactive protein distribution;its relation to development of atherosclerosis[J].

2 结 果

孕妇 IgG 抗 A(B)效价检测结果见表 1,孕妇 IgG 抗 A(B)效价与新生儿 ABO 溶血病发病率结果见表 2。

表 1 孕妇 IgG 抗 A(B)效价检测结果(*n*)

类型	<i>n</i>	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512	1 : 1 024
IgG 抗 A	237	132	46	39	17	3
IgG 抗 B	195	111	41	30	11	2

[2] 彭道波,兰炯采,王梁平,等. 微柱凝胶试验在临床输血中的应用[J]. 第一军医大学学报,2001,21(6):F003.
[3] 徐长根,贺春金,张远鹏,等. 微柱凝胶技术检测血小板抗体[J]. 临床检验学杂志,2002,20(5):272.
[4] 管政,张军,陈丽,等. 3 种微柱凝胶抗人球蛋白卡在检测孕妇 IgG 血型抗体效价中的应用比较[J]. 蚌埠医学院学报,2011,36(8):872-877.
[5] 户发强,刘景汉,欧阳锡,等. 孕产妇血型抗体与 HDN 发生率及溶血程度的研究[J]. 中国医师杂志,2004,6(10):1300.
[6] 魏亚明,殷英贤. 红细胞棉衣抗体检查在输血及产前诊断中应用[J]. 中国输血杂志,2002,13(4):266.
[7] 彭小虎,刘竟,赵国胜,等. 微柱凝胶法测定孕妇 IgG 抗-A(B)效价的评价[J]. 实用预防医学,2006,13(3):773.
[8] 刘达庄. 免疫血液学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002:138.
[9] Langston MM,Procter JL, Cipolone, et al. Evaluation of the gel system for ABO grouping and D typing[J]. Transfusion,1999,39(3):300-305.
[10] 王梁平,彭道波,赵晖,等. 微柱凝胶与凝聚胺法抗体筛查比较分析[J]. 临床检验杂志,2001,19(6):355.
[11] 谢作听,王春香,陈钦宏,等. 三种方法测定人血清 IgG 抗 A 抗 B 效价的比较[J]. 临床输血与检验,2002,4(1):25-26.

(收稿日期:2013-01-28)

Atherosclerosis,1999,145(2):375-379.

[4] Yamaguchi H,Homma Y,Handa S. Biochemical markers of vasospastic coronary artery disease[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis,2003,13(6):365-371.
[5] 焦燕,孟学刚,王明远,等. 超敏 C-反应蛋白水平与心脑血管病的关系分析[J]. 心血管康复医学杂志,2009,18(5):446-448.
[6] Arbel Y,Eros Y,Rogowski O,et al. Comparison of values of wide-range C-reactive protein to high-sensitivity C-reactive protein in patients undergoing coronary angiography [J]. Am J Cardiol,2007,99(11):1504-1506.
[7] Myers GL,Rifai N,Tracy RP,et al. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease:Application to Clinical and Public Health Practice;report from the laboratory science discussion group[J]. Circulation,2004,110(25):e545-549.
[8] 王凡,蒋红君. C 反应蛋白的检测与临床应用进展[J]. 检验医学与临床,2011,8(14):1761-1763.

(收稿日期:2012-11-08)