·检验仪器与试剂评价·

Nephstar Plus 特定蛋白分析仪测定超敏 C 反应蛋白性能评价

吴跃平，曹 科，王 丹，王荣君，马东礼
（深圳市儿童医院检验科，广东深圳 518026）

摘 要：目的 了解 Nephstar Plus 特定蛋白分析仪测定超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)的性能特点。**方法** 对 Nephstar Plus 特定蛋白分析仪检测系统测定 hs-CRP 的精密度、正确度、线性、干扰等性能指标进行测试。**结果** 重复性与稳定性：Nephstar Plus 特定蛋白分析仪测定 hs-CRP 的批内精密度在浓度为 2.54、53.38、134 mg/L 时的变异系数(*CV*)分别为 6.61%、3.83%、2.31%；批间精密度在 hs-CRP 浓度为 30.31、45.17 mg/L 的 *CV* 分别为 7.51 %、6.14%。正确度：Nephstar Plus 测定结果与 IMMAGE 全自动免疫分析仪比较，回归方程为 $Y=0.941\ 7X-0.942\ 6$，$r=0.987$，在 3 个医学决定水平浓度的相对偏差分别为 15.3%、7.7%、6.8%。线性：在 hs-CRP 2.18～194.85 mg/L 范围内，经过测定 6 个浓度梯度的样品，测定值和理论值直线回归方程为 $Y=1.047\ 9X-1.832\ 6$，$r^2=0.992\ 7$。干扰：通过测试黄疸和脂血标本，胆红素达 30 mg/dL、三酰甘油 1.5 mmol/L偏差分别为 8.8%、−4.8%。**结论** Nephstar Plus 特定蛋白分析仪测定 hs-CRP 的主要分析性能基本满足临床需要。

关键词：C 反应蛋白质； 精密度； 正确度； 线性； 干扰
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.044 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-4130(2013)14-1870-02

C 反应蛋白(CRP)是一种急性时相反应蛋白，在急慢性感染、创伤、肿瘤、心肌梗死时其血浓度升高。采用超敏感方法检测的 C 反应蛋白，被称为“超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)”，在冠心病、脑卒中、周围血管栓塞等疾病的诊断和预测中发挥重要作用，甚至被认为是心血管危险评估的“金标准”。深圳国赛生物技术有限公司 Nephstar Plus 特定蛋白分析仪采用散射比浊法测定 hs-CRP，具有携带便捷、操作快速简便、标本用量少、检验周期短等特点，适用于 POCT。为了评价该仪器测定 hs-CRP 的技术性能，我们对其测定 hs-CRP 的精密度、正确度、线性、干扰等性能指标进行了初步测试，报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 实验仪器与试剂：深圳市国赛生物技术有限公司 Nephstar Plus 特定蛋白分析仪(散射比浊法，简称：Nephstar Plus)及配套试剂、校准卡、质控品。比较仪器与试剂：Beckman Coulter 公司 IMMAGE 全自动免疫分析仪(免疫比浊法，简称：IMMAGE)及配套试剂、校准品、质控品。

1.2 标本 $EDTA\text{-}K_2$ 抗凝静脉血。

1.3 质量控制 实验前对各检测系统进行常规维护、保养、校准与室内质控。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示，比较两种方法相关性采用线性回归分析。

1.5 评价方案

1.5.1 重复性实验(批内精密度) 根据 CLSI 的 EP5-A2 文件对精密度评价的要求[1]，取低、中、高 3 个水平的新鲜全血，3 h内各水平连续测定 20 次，计算均值($\bar{x}$)、标准差(s)、变异系数(CV)。

1.5.2 稳定性实验(天间精密度) 取两个水平的质控品，每天测定 1 次，连续测定 20 d，计算 $\bar{x}$、s、CV。

1.5.3 正确度实验 连续 5 d，每天收集 8 份不同 hs-CRP 浓度的新鲜静脉血标本(排除黄疸、溶血、脂血标本)，同时在两台仪器上作平行双份检测。以 IMMAGE 为比较仪器，Nephstar Plus 测定结果与其比对，参照 CLSI 的 EP9-A2 文件[2]，对结果进行偏倚评估。

1.5.4 线性实验 根据 CLSI 对线性评价的要求，选取 hs-CRP 高值和低值全血样本各一支，分别按 5∶0、4∶1、3∶2、2∶3、1∶4、0∶5 的比例进行混合，制备成 6 个浓度梯度的样品，每个浓度样品随机重复测定 3 次，计算均值。以测定值和理论值进行直线回归分析，以 $b=1.00\pm0.05$，$r^2\geqslant0.95$ 为判断标准。

1.5.5 干扰实验 根据 CLSI EP7-A 文件对干扰实验的相关要求[3]，采用在体外向正常人样本中加入不同浓度胆红素、脂肪乳的方法评价 Nephstar Plus 抗黄疸、脂血干扰的能力。根据加入干扰物质前后的测定值计算偏差，偏差＝(加入后测定值−加入前测定值)/加入前测定值×100%。

1.6 临床可接受性能判断 由于美国临床实验室修正法规(CLIA′88)未规定 CRP 的允许误差，本次实验暂定 $SE\%\leqslant10\%$ 为判定标准。

2 结 果

2.1 重复性与稳定性 重复性与稳定性实验结果见表 1 及表 2。Nephstar Plus 在 hs-CRP 浓度为 2.54、53.38、134 mg/L 时的批内 *CV* 分别为 6.61%、3.83%、2.31%，在浓度为 30.31、45.17 mg/L 的批间 *CV* 值分别为 7.51 %、6.14%。

2.2 正确度

2.2.1 根据检测结果，首先做离群点检查。通过对方法内和方法间离群值检查，未发现有离群值。

2.2.2 Nephstar Plus 与 IMMAGE 的 hs-CRP 双份测定均值散点图见图 1，双份测定均值差值散点图见图 2，可以看出，2 台仪器测定结果具有较好的相关性，当 hs-CRP＜50 mg/L 时，Nephstar Plus 与 IMMAGE 比较，偏差小，数据较均匀分布于 X 轴两侧；当 hs-CRP＞50 mg/L 时，偏差相对较大，且多数数据分布在 X 轴下方。

2.2.3 直线回归方程 IMMAGE 比较仪器，Nephstar Plus 与其进行回归分析，得到回归方程为 $Y=0.941\ 7X-0.942\ 6$，$r=0.987$。

2.2.4 临床可接受性评价 计算不同医学决定水平浓度时的相对偏差，判断临床可接受性能。在 hs-CRP 浓度 10、50、100 mg/L 的相对偏差分别为 15.3%、7.7%、6.8%。

表 1 批内精密度($n=20$)

标本	$\bar{x}$(mg/L)	s(mg/L)	CV(%)
低值	2.54	0.168	6.61
中值	53.38	2.046	3.83
高值	134	3.092	2.31

2.3 线性 选取的高、低值标本 hs-CRP 浓度分别为 194.85、2.18 mg/L，制备成 6 个浓度梯度的样品，以测定值和理论值进行直线回归分析，得到的回归方程为 $Y=1.047\ 9X-$

1.832 6，r^2=0.992 7，见图 3。

2.4　干扰　加入不同浓度干扰物检测结果见表 3。胆红素 30 mg/dL、三酰甘油 1.5 mmol/L 的测定偏差分别为 8.8%、−4.8%。

表 2　批间精密度（n=20）

标本	$\bar{x}$(mg/L)	s(mg/L)	CV(%)
中值	30.31	2.277	7.51
高值	45.17	2.776	6.14

表 3　生物干扰对测定的影响

干扰素	测定均值(mg/L)	偏差(%)
胆红素(mg/dl)		
0	13.373	—
5	13.071	−0.023
10	12.403	−0.073
15	13.230	−0.011
20	12.693	−0.051
25	12.193	−0.088
30	14.451	0.081
三酰甘油(mmol/L)		
0.0	13.636	—
0.3	13.546	−0.007
0.6	12.453	−0.087
0.9	12.351	−0.094
1.2	13.168	−0.034
1.5	12.980	−0.048
1.8	11.071	−0.188

—：无数据。

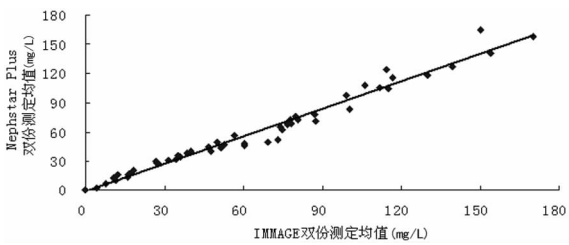


图 1　双份测定均值散点图

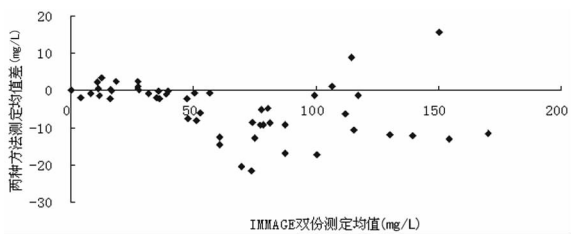


图 2　双份测定均值偏差散点图

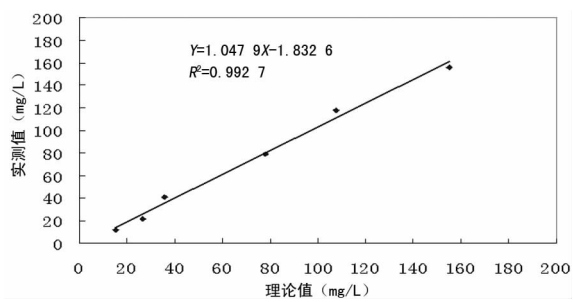


图 3　hs-CRP 不同浓度标本理论值与实测值的相关性

3　讨　论

本研究表明，Nephstar Plus 特定蛋白分析仪测定 hs-CRP 的批内及批间变异系数均小于 8%，在临床可接受范围内，说明该系统测定 hs-CRP 具有较好的重复性和稳定性。正确度评价中，比对实验结果显示在 3 个不同浓度的医学决定水平处，2 种方法测定结果的相对偏差在 6.8%～15.3%，hsCRP 浓度较低时相对偏差较大，浓度高时，相对偏差较小。在医学决定水平为 10 mg/L 时，该检测系统偏差高于本实验设定的临床可接受标准，医学决定水平 50、100 mg/L 时的偏差均在可接受范围内。线性试验结果表明本法具有较好的线性。干扰实验中，胆红素达 30 mg/dL 时偏差小于 10%，说明该检测系统具有较好的抗黄疸干扰的能力；而三酰甘油对测定的影响中，最大可接受浓度仅 1.5 mmol/L，说明三酰甘油对本法的影响较大，脂血、乳糜性标本不适于在该检测系统直接测定，这与厂家的申明一致：高度乳糜、浑浊的样品不适合用散射比浊检测，测定时仪器可能会显示空白过高，对此类标本建议离心后测定血清 CRP 值。综上所述，Nephstar Plus 特定蛋白分析仪 hs-CRP 检测的主要分析性能指标基本符合质量目标要求，可满足临床需要。

CRP 是相对分子质量为 115 000～140 000 的血清 β 球蛋白，由 5 个相同的亚单位以非共价键结合成环状五球体[4]。CRP 由肝细胞合成，在人的血液、脑脊液、胸腹腔积液等多种体液中均可检出。健康人 CRP 的浓度很低（0.068～8.2 mg/L），但在组织损伤、急性感染发生后 6～8 h 开始升高，24～48 h 达峰值，可达正常值的几百倍甚至上千倍，升高幅度与感染程度成正比，炎症治愈后浓度迅速下降，7～12 d 可恢复正常水平。CRP 持续增高提示机体存在慢性炎症或自身免疫疾病，而病毒感染时不会升高，其变化不受患者的个体差异、机体状态和治疗药物的影响。CRP 虽为非特异性指标，但对细菌感染、组织坏死与损伤及其恢复期的筛检、监测、病情评估与疗效判断有重要价值。hs-CRP 则是诊断和预测心血管事件发生、发展的有效指标，在冠心病、卒中、周围血管栓塞等疾病的预测中发挥重要作用，对于心血管疾病危险性评估具有重要意义。在儿科，新生儿感染性疾病缺乏特异性表现，特别是新生儿败血症，血培养阳性率较低，使早期诊断受到限制[5]，hs-CRP 作为新生儿感染性疾病早期诊断的客观指标有重要的临床意义，因新生儿血清 hs-CRP 水平一般小于 2 mg/L，大于此值即与细菌感染的严重程度有关。Nephstar Plus 特定蛋白分析仪作为一台小型 hs-CRP 测定仪，操作简便、标本用量少，较适用于临床对心血管病人及儿科病人等进行 hs-CRP 床旁测定。

参考文献

[1] NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; Approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA: NCCLS. 2004.

[2] NCCLS. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples. approved guideline, second edition [S]. Wayne, PA: NCCLS. 2002.

[3] NCCLS. EP7-A Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. NCCLS[S]. Wayne, PA: NCCLS. 2002.

[4] 沈立松. 急性时相蛋白 C-反应蛋白的临床意义[J]. 临床儿科杂志，2003，21(2)：253-255.

[5] 吴苔，陈莉亚. 血清 C 反应蛋白在新生儿感染时的变化[J]. 浙江预防医学，2001，13(1)：46.

（收稿日期：2013-01-22）