

• 临床检验研究论著 •

超敏 C 反应蛋白检测试剂性能验证

胡智颖, 胡梅, 张曼[△]

(首都医科大学附属北京世纪坛医院检验科, 北京 100038)

摘要:目的 验证研究试剂与对照试剂检测结果的一致性。方法 共收集标本 150 例, 其中血清样本 130 例, 血浆样本 20 例。以相对差值均值的 4 倍作为标准化检测界限, 删除 5 例离群值后重新进行回归分析, 计算医学决定水平处预期偏倚以及预期偏倚 95% 的可信区间, 判断医学决定水平处预期偏倚是否在允许范围内。计算研究试剂用于 hs-CRP 用于检测的正确性、重复性。结果 研究试剂的正确性验证的回收率在 90%~110%, 重复性验证的变异系数(CV)小于或等于 5.0%, 与对照试剂的检测结果相关性良好, 同来源采集的血清与血浆样本 hs-CRP 检测值一致, 且医学决定水平处预期偏倚在允许范围内。结论 研究试剂用于 hs-CRP 检测的准确性、重复性良好, 与对照试剂的检测结果有高度一致性。

关键词:超敏 C 反应蛋白; 对比测试; 一致性**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.17.019**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)17-2313-02

The performance verification of high-sensitive C reactive protein test reagent

Hu Zhiying, Hu Mei, Zhang Man[△]

(Department of Clinical Laboratory, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100038, China)

Abstract: Objective To verify the accuracy, repeatability and consistency with contracting reagent of the high-sensitive C reactive protein(hs-CRP) test by using the independently developed reagents. **Methods** 150 samples were collected, including 130 serum samples and 20 plasma samples. 4 times of the relative difference of mean value was used as the detection limits, and the regression analysis was performed after excluding 5 sample outliers, then calculated the expected bias at medical decision level with the 95% confidence interval, in order to judge whether the bias was within the allowable range. **Results** The recovery rate of hs-CRP test reagent were within the allowable range which was 90%—110%. The hs-CRP testing results of plasma and serum samples from the same source were consistent, and the expected bias of medical decision level was in the permissible range. **Conclusion** The developed reagent used in hs-CRP test have good accuracy, repeatability, and highly consistency with control reagent.

Key words:high-sensitive C reactive protein; comparison test; consistency

超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)是一种能与肺炎链球菌 C 多糖体反应的急性期反应蛋白, 是人体受到微生物入侵或组织损伤等炎性刺激时肝细胞合成的急性反应蛋白, 可作为动态监测病情变化的指标^[1]。C 反应蛋白的检测可用于心血管疾病、慢性阻塞性肺疾病急性加重期^[2]、急性胰腺炎^[3-4]、肝硬化和重症肝炎、感染性肾积水、肾肿胀以及新生儿败血症的诊断, 其诊断炎性疾病疾病的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值均优于传统的感染指标。本研究旨在验证自主研发的 hs-CRP 检测试剂的测试结果与已被 SFDA 批准的 hs-CRP 检测试剂的一致性。

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集健康体检者的新鲜检测样本, 包括血清和血浆样本, 共 150 例。样本分析浓度覆盖整个仪器和检测试剂盒的可报告范围, 并去除溶血和乳糜血标本。

1.2 仪器与试剂 对照系统为德国西门子 BN II 全自动蛋白分析仪检测及其配套西门子试剂(散射比浊法, 批号: 167517)、多项校准品(批号: 083693)和高、低值质控品(高值批号: 084838, 低值批号: 084738); 研究系统为日立 7600 全自动大型生化分析仪, 研究试剂为苏州博源医疗科技有限公司的 hs-CRP 测定试剂(胶乳凝集比浊法, 批号: 124812)及其配套的多项校准品(批号: 026086)和高、低值质控品(高值批号: 026188, 低值批号: 026286)。

1.3 方法

1.3.1 正确性验证 将一定体积的标准溶液或纯品加入到人工空白基质中形成低、中、高浓度检测样本, 样本浓度分别为

6.0、12.0 和 20.0 mg/L(样本浓度必须在试剂盒检测的线性范围内), 每个样本用研究试剂重复检测 3 次后求均值, 计算回收率 R, 回收率应为 90%~110%。

1.3.2 重复性(批内精密度)验证 用同一批号的研究试剂分别测定 hs-CRP 浓度分别为高值和低值的两个标本, 每个标本重复测定 20 次后求均值, 再分别计算变异系数(CV), CV 均应小于或等于 5.0%。

1.3.3 比对试验 仪器性能良好、质控在控、人员操作熟练情况下, 2 台检验仪器用研究试剂和对照试剂分别对 150 例标本, 每天检测 30 例, 分 5 d 完成, 共检测获得 300 个数据。所有的操作均严格按照仪器操作手册和试剂说明书进行。

1.4 统计学处理 所有数据的统计和记录均用 Excel2003 完成。根据 NCCLS EP9-A2 文件中对离群值计算的规定^[5], 以相对差值均值的 4 倍作为标准化的检测界限, 删除离群值。计算相关性: 建立回归方程, 计算医学决定水平处的预期偏倚(Bc)及 Bc 的 95% 可信区间, 以允许总误差的 1/2 作为评价标准。当 Bc 可信区间小于判断标准, 证明研究试剂与对照试剂可比。

2 结 果

2.1 正确性验证 检测样本目标值分别为 6.0、12.0 和 20.0 mg/L, 每个样本重复测定 3 次, 测定均值分别为 6.48、12.57 和 19.63 mg/L, 试剂回收率在 90%~110% 的范围内, 见表 1。

2.2 重复性分析 测定 hs-CRP 高、低值两个标本, 每个标本重复测定 20 次, 检测结果均值分别为 17.23、8.45 mg/L, 标准差分别为 0.19、0.20 mg/L, CV 分别为 1.10%、2.37%。低

值、高值标本检测的 CV 均小于或等于 5%，满足方案技术指标要求。见表 2。

表 1 正确性验证结果

目标值(mg/L)	测定均值(mg/L)	回收率(%)	结果判断
6.0	6.48	108.0	符合
12.0	12.57	104.8	符合
20.0	19.63	98.2	符合

表 2 重复性验证结果

项目	高值	低值
均值(mg/L)	17.23	8.45
标准差(mg/L)	0.19	0.20
CV(%)	1.10	2.37
结果判断	符合	符合

2.3 比对结果分析

2.3.1 标本信息 本次验证纳入统计的病例总数为 149 例,有 5 例离群值样本被剔除。剔除离群值后的样本信息见附表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.3.2 两种试剂线性回归分析 对同一份标本分别用研究试剂和对照试剂进行平行检测,记录测定结果,进行回归分析,见图 1。回归方程为 $Y=0.9687X+0.2010, r^2=1.0000$,证明两种试剂相关性良好。

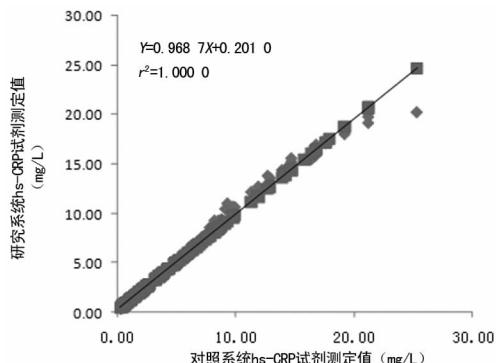


图 1 对照系统与研究系统血清测定结果散点图及回归曲线

2.3.3 用研究试剂对同来源采集的血清与血浆样本的检测结果进行回归分析 回归方程为 $Y=0.9565X+0.0276, r^2=0.9821$,见图 2。检测结果表明研究试剂测定同一来源的血清、血浆样本的 hs-CRP 值保持一致。

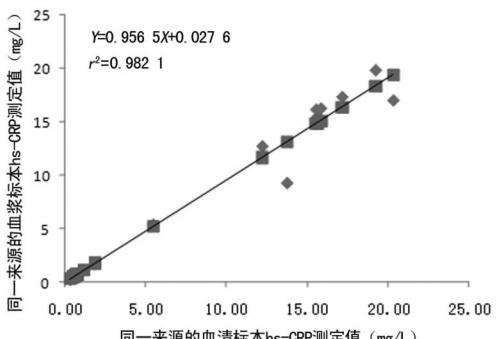


图 2 研究试剂测定同一来源的血清、血浆样本 hs-CRP 值比较图

2.3.4 偏倚估计 经过 B_c 估计值、相对偏差、 B_c 的 95% 可信区间的计算, B_c 估计值的 95% 可信区间为 $(-0.02, 0.11)$ 。在

医学决定水平(5 mg/L)处,以卫生部临床检验室间质量评价计划允许总误差的 $1/2$ 作为评价标准, B_c 估计值的临床可接受的区间为 $(-0.75, 0.75)$ 。 B_c 可信区间为 $(-0.02, 0.11)$, 小于判断标准,证明研究试剂同对照试剂可比。

3 结 论

hs-CRP 广泛存在于人体内,产生于抗原进入机体的早期,现早已作为医院常规检查项目,作为辅助诊断依据应用于临床。C 反应蛋白可以为所有不明病因的炎症的鉴别诊断提供帮助与支持,如各种急性炎症、组织损伤、心肌梗死、手术创伤、放射性损伤等疾病的鉴别。

本试验依据《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》中的相关规定,制定了具体的研究方案,对研究试剂进行了正确性、重复性验证,并通过与已被 SFDA 批准的对照 hs-CRP 检测试剂进行比对试验,从而验证了研究试剂的各种关键性能。

在比对试验中,由于本实验室使用不同的检测系统测定相同的检验项目,因此应对其检测结果进行比对和偏倚评估。偏倚不被接受时,建立了直线回归方程使不同的检测系统结果具有可比性,得到了可靠的实验依据^[6-7]。本次临床试验一共收集标本 150 例,其中血清样本 130 例,血浆样本 20 例。实际纳入统计样本数为 149 例,因 1 例样本的对照试剂测定值小于 0.17 mg/L ,统计时将其排除。根据 NCCLS 的 EP9-A2 文件中对离群值计算的规定^[5,8],以相对差值均值的 4 倍作为标准化的检测界限,剔除了 5 例离群值后重新进行回归分析和计算。整个临床试验采用样本盲法检测,在测定过程中,对同一份标本分别用研究试剂和对照试剂进行平行检测,分别记录测量值。结果显示,研究试剂与对照试剂的检测结果相关性良好,同一来源采集的血清与血浆样本 hs-CRP 检测值一致,且医学决定水平处 B_c 在允许范围内。

本课题组自主研发的检测试剂盒的广泛应用,不但可以继续为临床提供准确、及时的检验结果,减少患者就医成本和整个医药行业的开支,更可以推动本国医药行业的发展,提高整个国家的医疗卫生技术水平。

参 考 文 献

- [1] 崔娴维,赵炜.急诊检验与临床[M].北京:人民军医出版社,2001:287.
- [2] Dev D, Wallace E, Sankaran R, et al. Value of C-reactive protein measurements in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Respir Med, 1998, 92(4): 664-667.
- [3] 冯运斌.尿胰蛋白酶抑制剂药理学研究及临床应用进展[J].中国生化药物杂志,1998,19(4):212-216.
- [4] Xu L, Ren B, Li M, et al. Ulinastatin suppresses systemic inflammatory response following lung ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Transplant Proc, 2008, 40(5): 1310-1311.
- [5] 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,2006:59-60.
- [6] 张勤寂,刘堂斌,陈丽峰.室内不同生化检测系统测定结果的比对及偏倚评估[J].实验与检验医学,2008,26(2):151-152.
- [7] 邱玲,程歆琦,刘荔,等.多台生化分析仪多项目同时进行比对的实验研究设计及应用[J].中华检验医学杂志,2007,30(9):1001-1004.
- [8] 耿汉科.参照 NCCLS EP9-A2 文件探讨实验室可用的试剂性能评估方案[J].现代医药卫生,2013,29(8):1168-1169.

(收稿日期:2014-03-21)