

• 检验仪器与试剂评价 •

同型半胱氨酸检测试剂盒性能评价

张立敏,胡金川,魏金凤,李岩

(中国人民解放军第 281 医院检验科,河北秦皇岛 066100)

摘要:目的 评价国内某公司同型半胱氨酸(Hcy)试剂性能指标,探讨其临床应用价值。方法 利用奥林巴斯 Au640 生化仪对 Hcy 试剂盒进行准确度、重复性、稳定性、线性范围等方法学评价。结果 正常值质控和病理值质控测定相对偏倚分别为 0.2% 和 4.9%,远小于试剂说明书要求的小于 15%;批内变异百分率分别为 2.6% 和 2.3%,小于试剂说明书要求的小于 5%;天间变异百分率分别为 4.4% 和 4.1%,小于试剂说明书要求的小于 10%。在 0~66 μmol/L 浓度范围内,复相关系数 r^2 为 0.997,说明预期值与测量值之间相关性极好;斜率 $b_1 = 0.979\ 9$,在 0.97~1.03 范围内,从经验上判断,斜率与 1 之间无差异,截距 $b_0 = 0.151\ 8$,与 0 之间无差异,表明该试剂在实验所涉及的浓度范围内(0~66 μmol/L)检测结果呈线性。**结论** 国内某公司 Hcy 试剂各方面性能指标优异,适于临床应用。

关键词:同型半胱氨酸; 性能评价; 试剂盒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)23-3249-02

Evaluation of performance of homocysteine test kit

Zhang Limin, Hu Jinchuan, Wei Jinfeng, Li Yan

(Department of Clinical Laboratory, 281 Hospital of PLA, Qinhuangdao, Hebei 066100, China)

Abstract: Objective To evaluate the performance of homocysteine(Hcy) test kit produced by a domestic company and to investigate its feasibility in clinical application. **Methods** A series of methodological evaluation experiments including the accuracy, repeatability, stability and linear range of the Hcy reagent kit were carried out on the Olympus Au640 biochemistry analyzer. **Results** The experiments showed that the relative biases of detection results of normal value quality control serum and pathological value quality control serum were 0.2% and 4.9%, respectively, which were far less than 15% of the reagent instruction. The intra-assay coefficients of variation(CV) of normal and pathological quality control serum were 2.6% and 2.3% respectively, which were less than 5% of the reagent instruction. While the inter-assay CV of normal and pathological quality control serum were 4.4% and 4.1% respectively, which were less than 10% of the reagent instruction. The experiments for the linear range evaluation showed that R^2 was 0.997 in the concentration range of 0~66 μmol/L, which suggested that the correlation between expected value and measured value was very well. Otherwise, the slope rate b_1 of 0.979 9 and the intercept b_0 of 0.151 8 were both showed that the detection results of Hcy reagent were linear in the concentration of 0~66 μmol/L. **Conclusion** The performance of Hcy kit produced by a domestic company is very good in the performance indexes of accuracy, repeatability, stability, and linear range and suitable for the clinical application.

Key words: homocysteine; performance evaluation; test kit

同型半胱氨酸(Hcy)是一种含硫氨基酸,是蛋氨酸循环中重要的中间代谢产物,体内不能合成^[1],几乎存在于人体所有组织^[2]。当与 Hcy 代谢有关的酶或辅助因子缺乏使 Hcy 代谢受阻时,就会导致高同型半胱氨酸血(HHcy)。近年大量研究证实 Hcy 水平受多种因素如遗传、环境、营养、药物等影响^[3],与心脑血管疾病、外周血管病变、糖尿病、肾脏疾病、老年性痴呆、肿瘤、妊娠并发症、出生缺陷、睡眠呼吸暂停低通气综合征、自身免疫疾病、骨质疏松等发病高度相关^[4]。Hcy 临床意义广泛,但试剂比较昂贵,为了寻求既保证质量又能降低成本的试剂,现对国内某公司 Hcy 试剂进行评价如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 日本奥林巴斯公司生产的 Au640 全自动生化分析仪;国内某公司 Hcy 试剂及其配套的标准品、质控品。

1.2 标本准备 (1)准备好足够实验用量的同一批次 Hcy 正常值质控和病理值质控;(2)选定好一高值患者血清;(3)每天随机抽取住院门诊患者及健康体检人群新鲜全血 5 例,连续

10 d,保证分离血清后 2 h 内完成检测。

1.3 实验方法

1.3.1 准确度实验 美国临床实验室标准化协会(CLSI)法规中要求可以通过检测商品化的标准品或定值控制品、具有确定值的能力比对试验调查标本来评估准确度^[5],以相对偏倚≤生物学变异“适度”的准确度质量指标为临床可接受水平^[6]。参照 CLSI 的 EP15-A2 指南文件提供的方案,分别测定配套的正常值和病理值质控,各测定 3 次,计算平均值(\bar{x}),参考质控参考说明书,计算相对偏倚,分析检测结果是否符合说明书标定的准确度标准。相对偏倚=(均值-靶值)/靶值。接收准则:按照说明书要求。

1.3.2 重复性实验(批内精密度) 根据 CLSI 的 EP5-A2 文件对于精密度评价的要求,分别测定配套正常值质控、病理值质控,各连续测定 20 次,分别计算平均值(\bar{x})、标准差(SD)与变异系数(CV),验证试剂的批内精密度是否符合说明书标定的标准。接收准则:按照说明书要求。

1.3.3 稳定性实验(天间精密度) 分别测定配套正常值质

控, 病理值质控, 连续测定 10 d, 每天测 2 次(间隔至少 2 h), 计算总的精密度, 以 CV 表示。接收准则: 按照说明书要求。

1.3.4 线性范围评估实验 将高值患者标本采用生理盐水按照 10/0、9/1、8/2、7/3、6/4、5/5、4/6、3/7、2/8、1/9 和 0/10 的比例稀释, 依次进行测定, 将预期值为 X, 测量值为 Y, 做散点图, 进行直线回归分析, 确定试剂的线性范围。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.0 软件对实验数据进行统计学分析。采用 Microsoft Excel 2003 软件做散点图, 并进行直线回归分析。

2 结 果

2.1 准确度实验 正常值、病理值质控 3 次测定相对偏倚分别为 0.2% 和 4.9%, 远小于试剂说明书要求的小于 15%, 见表 1。

表 1 国内某公司 Hcy 试剂准确度分析($\mu\text{mol/L}$)

测试样本	第 1 次	第 2 次	第 3 次	平均值	靶值	相对偏倚
正常值质控	12.21	11.68	12.03	11.97	12.00	-0.002
病理值质控	27.49	28.27	26.96	27.57	29.00	-0.049

2.2 重复性实验(批内精密度) 正常值、病理值质控天内 20 次测定批内变异百分率分别为 2.6% 和 2.3%, 小于试剂说明书要求的小于 5%, 见表 2。

表 2 国内某公司 Hcy 试剂批内精密度和天间精密度分析($\mu\text{mol/L}$)

测试样本	批内			天间		
	\bar{x}	SD	CV	\bar{x}	SD	CV
正常值质控	11.40	0.30	0.026	14.91	0.66	0.044
病理值质控	22.80	0.52	0.023	22.66	0.92	0.041

2.3 稳定性实验(天间精密度) 正常值、病理值质控天间 20 次测定变异百分率分别为 4.4% 和 4.1%, 小于试剂说明书要求的小于 10%, 见表 2。

2.4 线性范围评估实验 从图 1 可知, $r^2 = 0.997$, 说明预期值与测量值之间相关性极好; $b_1 = 0.9799$, 在 0.97~1.03 范围内, 从经验上判断, 斜率与 1 之间无差异, $b_0 = 0.1518$, 与 0 之间无差异。表明: 该方法在实验所涉及的浓度范围内(0~66 $\mu\text{mol/L}$)成线性。

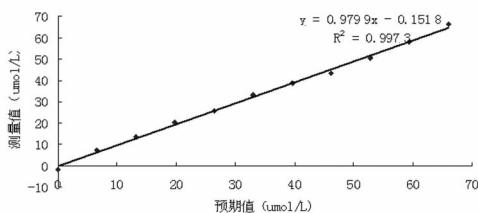


图 1 Hcy 预期值和测量值散点图

3 讨 论

Hcy 是体内蛋氨酸代谢过程中形成的一种含硫氨基酸。Hcy 于 1932 年由 DeGraaf 发现, 其结构式为 $\text{HSCH}_2(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$ ^[7]。自 1969 年美国哈佛大学的 McCully 提出 Hcy 与动脉粥样硬化(As)有关的假说后, Hcy 日益受到关

注^[8]。

Hcy 又称高半胱氨酸, 包括 3 种形式: Hcy、双硫同型半胱氨酸和混合型同型半胱氨酸。健康人体内主要以蛋白质结合形式存在, 游离的同型半胱氨酸很少^[8]。

在正常机体内, Hcy 的生成和清除保持着严格的动态平衡。健康成人清晨空腹血浆浓度大约为 5~15 $\mu\text{mol/L}$ 。高同型半胱氨酸血症按程度分为轻度(16~31 $\mu\text{mol/L}$)、中度(31~100 $\mu\text{mol/L}$)和重度(>100 $\mu\text{mol/L}$)^[4]。

Hcy 意义在于提供甲基以合成多种重要生理活性物质, 并参与蛋白质的合成^[9]。越来越多的研究表明, Hcy 与多种疾病有关, 并且已经成为某些疾病的非传统独立危险因素。因此, 监测 Hcy 的重要性不容忽视, 应将 Hcy 作为体检常规项目并做更多的研究。但 Hcy 试剂昂贵, 限制了 Hcy 的广泛开展。所以很有必要选择一个物美价廉的试剂品牌。

本实验室通过测定配套的正常值和病理值质控做准确度实验, 计算相对偏倚分别为 0.2% 和 4.9%, 远小于试剂说明书要求的小于 15%。批内精密度实验测定配套的正常值质控和病理值质控变异百分率分别为 2.6% 和 2.3%, 小于试剂说明书要求的小于 5%; 天间变异百分率分别为 4.4% 和 4.1%, 小于试剂说明书要求的小于 10%。线性范围评估实验结果表明, 在 0~66 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内, r^2 为 0.997, 说明预期值与测量值之间相关性极好; $b_1 = 0.9799$, 在 0.97~1.03 范围内, 从经验上判断, 斜率与 1 之间无差异, $b_0 = 0.1518$, 与 0 之间无差异, 表明: 该方法在实验所涉及的浓度范围内(0~66 $\mu\text{mol/L}$)成线性。

综上所述, 国内某公司 Hcy 试剂各方面性能指标优异, 适于临床推广使用。

参 考 文 献

- 陈燕铭, 张晓菲, 穆攀伟, 等. Hcy 在 2 型糖尿病合并脂肪肝及高血压患者中的变化[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(14): 1406-1408.
- 宋兴龙, 汪付兵. 伴高脂血症的脑梗死患者同型半胱氨酸水平的研究[J]. 爆中与神经疾病, 2011, 18(4): 252-253.
- 常珍, 李鹏, 夏红, 等. 血清 HCY 及相关指标在肾脏疾病中的检测意义[J]. 临床输血与检验, 2011, 13(2): 121-123.
- 方雁, 都青林, 何瑾, 等. 同型半胱氨酸与相关疾病的关系[J]. 中国现代医药杂志, 2010, 12(1): 121-123.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method Comparison and bias estimation using patient samples (second edition)[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2 User demonstration of performance for precision and accuracy[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- 沈罡, 季军. 慢性肾衰竭患者血清 Hcy 检测的临床价值[J]. 中国疗养医学, 2011, 20(5): 461-462.
- 聂书萍, 邹存富. 同型半胱氨酸代谢及相关疾病[J]. 医学研究通报, 2005, 34(1): 60-61.
- 高淑平. 血清同型半胱氨酸检测对糖尿病并发脑梗死患者的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(10): 1198-1199..

(收稿日期: 2014-05-27)