

同型半胱氨酸检测试剂盒性能分析

徐国超

(新乡市中心医院, 河南新乡 453000)

摘要:目的 分析生之源同型半胱氨酸测定试剂的性能。方法 通过采用全自动生化分析仪对质控品及血清样本中的同型半胱氨酸进行检测,进而对同型半胱氨酸检测试剂盒的稳定性、特异性、精密度、线性关系、灵敏度和准确度等特性进行系统的评价。结果 通过对高、中、低三个浓度的质控进行检测并对检测结果进行分析,发现生之源同型半胱氨酸检测试剂盒其检测偏差均小于厂家给出的标准,即小于 5%,符合相关要求。同时试剂盒的稳定性、线性关系、灵敏度、特异性和准确度等特性均与厂家的相关标准相符合。结论 生之源同型半胱氨酸检测试剂盒在稳定性、特异性、精密度、线性关系以及灵敏度和准确度等特性方面优于或符合相关标准的要求,可以用于临床诊断实验中检测样本中同型半胱氨酸的水平。

关键词:同型半胱氨酸; 试剂性能; 分析**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.04.062**文献标识码:**B**文章编号:**1673-4130(2015)04-0564-02

同型半胱氨酸(Hcy)是由诺贝尔奖得主 Vincent du Vigneaud 于 1932 年发现的。并于 1969 年提出同型半胱氨酸致病理论假说^[1]。自上世纪九十年代以来,对于同型半胱氨酸的研究越来越多,多数学者认为同型半胱氨酸升高是血管疾病的一个独立危险因素,与临床许多疾病也有关联。鉴于同型半胱氨酸在临床上独特的优势,分析并评价生之源同型半胱氨酸检测试剂盒的各项特性,以期能够为同型半胱氨酸的研究者以及临床应用者提供使用的依据和参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 资料选自 2013 年 10 月本院测试同型半胱氨酸试剂性能的相应文件,主要对其进行整理、总结,并回顾性分析其测试结果、最终给出结论。

1.2 仪器与试剂 生化分析仪选用迪瑞 6400,试剂盒为武汉生之源生物科技有限公司所提供的同型半胱氨酸测定试剂盒。所检测的样本为血清、黄疸、脂血混合血清和无溶血等,各 20 mL,并选用 1 份高值的同型半胱氨酸样本。

1.3 方法 本次测试旨在通过评价其准确度、精密度、灵敏度和稳定性等,进而分析其性能。主要包括以下几类方法。

1.3.1 准确度的评价 在进行准确度的评价时,应将实验室的常规操作程序作为标准,然后完成同型半胱氨酸项目的定标工作,对水平质控品进行测定,包括高、中、低三个层次,且需将每一份质控品测试 3 次,并算出其均值。同时还应将每份质控品的靶值及均值偏差计算出来,之后比较每一份样本偏差同企业标准值,即偏差在±5%内^[2]。

1.3.2 精密度的评价 在进行精密度的测试时,需把伯乐质控品的低、中和高 3 个浓度水平划分成 20 份,并进行同批连续测试,然后计算出变异系数(cv)与标准差(sd),并将变异系数与厂家给出的相应标准进行比较,要求其小于 5%^[3]。在同批之间的精密度计算当中,应对伯乐低和高的两个浓度水平质控品持续测试 20 天,每天完成一次测试,然后收集好所有测试得出的数据,将变异系数和标准差计算出来,之后将其与卫生部得出的数据进行比较,需确保变异系数小于 6%^[4]。

1.3.3 线性范围的评价 在评价线性范围时,应把高值的样本血清按照倍比的方式完成稀释,其比例关系为 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 之后将每个稀释样本完成 2 次测试。最后

需计算出实测均值和理论浓度之间的线性关系,其线性相关系数(r)应大于 0.975,而斜率则需介于 0.97~1.03 之间^[5]。

1.3.4 灵敏度的分析 在分析灵敏度时,首先应选取生理盐水作为白样品,然后对其反复测定 20 次,将均值和标准差计算出,需保证灵敏度介于±2s 之间,若是测试系统给出的灵敏度值小于分析所得的值,则表示没有检出分析物^[6]。

1.3.5 特异性的评价 在评价特异性时,应在混合血清当中分别进行血红蛋白、胆红素、红细胞和三酰甘油等干扰物的添加,然后对添加干扰物之后所得的样本与对照样本的测试值偏差进行分析。若是测定结果的偏差大于 10%,则表明其存在干扰性^[7]。

1.3.6 对生之源试剂与和光试剂进行系统的对比分析。 首先应按照相关的试剂说明书,于迪瑞 6400 全自动生化分析仪上进行参数的设定,完成试剂盒的标定之后,应对 40 例血清样本进行检测,且在样本当中应含有正常值和高值,而浓度的分布则需具备一定的梯度,要求在 2 小时之内完成测试。完成测试之后,将生之源试剂测定值设为 X,而和光试剂的测定值则设为 Y,将相关系数 r 及回归方程计算出来,且需保证相关系数大于 0.975^[8]。

1.3.7 稳定性评价 本次测试主要评价的是开瓶上机的稳定性,完成第一次的校准之后,应将开瓶放置在仪器的试剂仓当中,且在之后便无需进行校准操作,但质控品需每天均进行检查,还记录好发生失控时,其在机器中所放置的天数。

1.4 统计学处理 所有数据均用 SPSS 19.0 软件包进行统计分析处理;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料用 *t* 检验,计数资料用 χ^2 检验;当 $P < 0.05$ 时,差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 准确度的测试结果 分析质控品的高、中、低三个浓度水平,其偏差均小于厂家给出的标准,即小于 5%,符合相关要求,见表 1。

2.2 精密度的测定结果 在精密度的分析中,质控品的三个浓度水平的批内测定,其变异系数均小于厂家要求的 5%,而在经过 20 天的批间测试后,其变异系数低于卫生部室间质量评价的 6%,满足相应要求,见表 2。

表 1 准确度的测试结果 (n)

质控品	结果 1(μmol/L)	结果 2(μmol/L)	结果 3(μmol/L)	测定均值(μmol/L)	靶值(μmol/L)	偏差(%)	判定标准(%)
高值	49.3	49.8	49.3	49.37	49.2	0.78	<5
中值	31.4	31.6	31.9	31.75	31.9	-0.71	<5
低值	15.7	49.7	16.1	16.01	16.0	-0.39	<5

表 2 精密度的测定结果 (n)

分组	批内(μmol/L)	标准差(%)	变异系数(%)	判断限(%)	批间(μmol/L)	标准差(%)	变异系数(%)	判断限(%)
高值	49.94	1.24	2.49	<5	49.67	0.87	1.81	<6
中值	31.93	0.90	2.83	<5	—	—	—	—
低值	16.02	0.58	3.67	<5	15.91	0.51	3.38	<6

—:无数据。

2.3 线性评价结果 经过计算测试出的数据,当浓度处于 0~70 μmol/L 之间时,实测数值 X 与理论浓度 Y 的线性方程为 Y=0.984X-0.209 6,其中,相关系数为 1.000,与厂家说明书中的声明标准相符合。

2.4 灵敏度测定结果 经过计算得出,其灵敏度的值为 0.1 μmol/L,其与厂家给出的相应标准相符合。同时,若是血红蛋白小于 500 mg/dL,胆红素小于 20 mg/dL,红细胞小于 0.4%,抗坏血酸小于 50 mg/dL 且三酰甘油小于 500 mg/dL 时,不会对检测的结果造成较明显的干扰,其与厂家给出的性能相一致。

2.5 系统对比结果及稳定性测定结果 当迪瑞 6400 生化分析仪处于 P 模块上时,和光试剂与生之源试剂所测定出数据的相关系数等于 0.998,具有较好的相关性,与相关标准及要求相符合。在稳定性测试方面,其结果显示,试剂能够不失控的于仪器试剂仓内存储的天数可大于 30 d,与厂家给出的相应声明相符合。

3 讨 论

Hcy 为一类蛋氨酸代谢过程中存有的中间产物,其中含有硫氨基酸^[9]。根据诸多的临床研究,以及大范围的流行病学的调查中表明,若是 Hcy 的水平升高,将会引发静脉、动脉的血栓塞,动脉粥样硬化方面的疾病,周围血管性疾病,肝脏疾病和糖尿病等,其作为一个独立因素,严重威胁到人类的身体健康^[10-11]。为此,临床中对同型半胱氨酸水平的测定,在疾病诊断方面具有重要的意义。但同时应保证所用试剂的可靠性和科学性,故除选用合适的测定方法之外,还需保证好相关测试设备的质量,以促进临床诊断水平和治疗水平的提升。

在本次研究中,笔者主要对生之源 Hcy 试剂的相关性能进行分析,并将得出的各项结果与厂家提供的相应标准进行比较,确保其能够满足临床诊断要求。分析质控品的高、中、低三个浓度水平,其偏差均小于厂家给出的标准,即小于 5%;在精密度的分析中,质控品的三个浓度水平的批内测定,其变异系数均小于厂家要求的 5%,而在经过 20 天的批间测试后,其变异系数低于卫生部室间质量评价的 6%;经过计算测试出的数据,当浓度处于 0~70 μmol/L 之间时,实测数值 X 与理论浓度 Y 的线性方程为 Y=0.984X-0.209 6,其中,相关系数为 1.000;当迪瑞 6400 生化分析仪处于 P 模块上时,和光试剂与

生之源试剂所测定出数据的相关系数等于 0.998,具有较好的相关性。其结果表明生之源 Hcy 试剂的稳定性、线性关系、灵敏度、特异性和准确度等均与厂家的相关标准相符合,并能够将其在全自动的生化分析仪中应用。

综上所述,生之源 Hcy 检测试剂盒在稳定性、特异性、精密密度、线性关系以及灵敏度和准确度等特性方面优于或符合相关标准的要求,可以作为 Hcy 研究及临床诊断的检测试剂而被采用。同时,Hcy 作为诱发心脑血管等疾病的重要影响因素,医生应在临床诊断中引起足够的重视,通过科学的诊断,促使患者能够得到及时的治疗,提升临床治疗效果。

参考文献

[1] McCully KS. Chemical pathology of homocysteine. IV. Excitotoxicity, oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation [J]. Ann Clin Lab Sci, 2009, 39(3): 219-232.

[2] 王建平, 王京雯, 李海伦, 等. 四种同型半胱氨酸生化试剂的比较和评价[J]. 中华全科医学, 2012, 10(11): 1777,

[3] 蒙明姜. 同型半胱氨酸检测试剂盒方法学评价[J]. 中国医药导报, 2011, 8(10): 135-136.

[4] 孙桂军. 对荧光法同型半胱氨酸测定试剂盒进行初步临床应用评价[J]. 医药前沿, 2013, 4(13): 121-122.

[5] 邵坤宁, 杨丽娟, 张海燕. 荧光法测定同型半胱氨酸的方法学评价[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(4): 103-104.

[6] 袁平宗. 循环酶法测定同型半胱氨酸的临床研究[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(4): 424-425.

[7] 冯志刚, 徐名烤, 修宁宁, 等. 同型半胱氨酸对腺苷脱氨酶试剂交叉污染的分析[J]. 实验与检验医学, 2013, 31(3): 226-228.

[8] 张丽霞. 血清同型半胱氨酸酶循环法试剂的临床研究[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(3): 334-335.

[9] 樊兵. 酶比色法与 HPLC 法测定血清同型半胱氨酸的相关性研究[J]. 中国医药导刊, 2013, 11(6): 1043-1044.

[10] 熊声贺, 王琴琴, 黄新城. 应用 EP7-A2 方案评价循环酶法同型半胱氨酸试剂对其他生化检测项目的干扰[J]. 实用中西医结合临床, 2011, 11(4): 67-68.

[11] 沈国平, 邢建明, 毛水莹, 等. 酶转换法测定同型半胱氨酸的方法学评价[J]. 医学研究杂志, 2012, 41(3): 131-133.